Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

159. BAND, 5. HEFT

MIT 18 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 6. JANUAR 1958)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1958

Z. anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 159 **Inhaltsverzeichnis** Heft 5

Originalabhandlungen

Seite

Michal, J., E. Pavlíková und J. Zýka, Die Verwendung von Merkupral für die photometrische Bestimmung von kleinen Quecksilbermengen in Erzen. Mit 4 Textabbildungen 321

Erbe, S., Beitrag zur colorimetrischen Bestimmung des Vitamins A mit verschiedenen Chlorhydrinen. (Vorläufige Mitteilung.) Mit 6 Textabbildungen 327

Singh, E. J., and A. K. Dey, Chromatographic Study of Anionic Complexes. Part I. Complex Cuprioxalate 332

Feigl, F., und R. A. Rosell, Nachweis von organischen Oxydantien in der Tüpfelanalyse. Unterscheidung von Chloramin T und Alkalihypochlorit 335

Lydersen, D. L., und M. Opem, Zur Wasserdampfdestillation von Ammoniak aus Bodenextrakten 339

Pietsch, R., Urantrennungen mit Kakodylsäure. Mit 2 Textabbildungen . . 343

Witzmann, H., und H. K. Müller-Buschbaum, Hochreinigung von Borsäure durch Ionenaustauscher, insonderheit zur Darstellung von Boratluminophoren 348

Tandon, J. P., and R. C. Mehrotra, Studies in Bivalent Chromium Salts. Part III. Standardisation of Chromous Sulphate Solution against Common Oxidising Agents 353

Rao, M. Nageswara, and Bh. S. V. Raghava Rao, Estimation of Uranium. Part II. A Spectrophotometric Study. With 2 Figures in the text . . . 356

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Institut für Erzforschung, Prag

Die Verwendung von Merkupral für die photometrische Bestimmung von kleinen Quecksilbermengen in Erzen

Von

J. Michal, E. Pavlíková und J. Zýka

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. Juli 1957)

In einer Reihe von Arbeiten, welche die Möglichkeit der Verwendung von Tetraäthylthiuramdisulfid (Dikupral) in der analytischen Chemie verfolgten[3–6,8,9], wurde auch die Möglichkeit der Verwendung des isolierten Komplexes des Tetraäthylthiuramdisulfids mit Kupfer (Merkupral) zur photometrischen Bestimmung des Quecksilbers und Silbers[7] untersucht. In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode vorgeschlagen, welche das Merkupral zu einer raschen, höchst selektiven und verläßlichen Bestimmung von kleinen Quecksilbermengen in Erzen benutzt. Zum Aufschluß des Materials wird das von Ensslin, Dreyer u. Lessmann[2] vorgeschlagene Destillationsverfahren verwendet, welches sich bei allen Bestimmungen vorzüglich bewährt hat. Die eigentliche Bestimmung beruht auf der Tatsache, daß der intensiv gefärbte Komplex des Kupfers mit Tetraäthylthiuramdisulfid sich durch Quecksilber(II)-ionen entfärbt und daß diese Farbschwächung den in der Lösung befindlichen Quecksilber(II)-ionen linear proportional ist. Durch Anwendung der bereits früher ausgearbeiteten komplexometrischen Bestimmung des Quecksilbers[1,3], welcher ein Destillationsaufschluß des Erzes vorausging und durch Vergleichen mit den mit der Eschka-Methode erzielten Ergebnissen wurde erneut die Tatsache bestätigt, daß das Quecksilber mit dem Eschka-Verfahren nicht quantitativ erfaßt wird und daß es nicht möglich ist, Eschkas Methode für genaue Analysen, vor allem bei *niedrigen* Quecksilbergehalten, in Anwendung zu bringen, obwohl dieses Verfahren vor allem für Serienbetriebsbestimmungen eine ganze Reihe von Vorteilen aufweist. Das vorgeschlagene photometrische Verfahren zur Bestimmung des Quecksilbers besitzt anderen Verfahren gegenüber den Vorzug, daß es bei gleicher Empfindlichkeit experimentell nicht so anspruchsvoll ist (vor allem was die Reinheit der Chemikalien anbetrifft), daß es sehr wenig Zeit erfordert und auch bei Serienbestimmungen einfach auszuführen ist.

Experimentelles

Reagentien. Zur Herstellung von Merkupral haben wir Tetraäthylthiuramdisulfid verwendet (Východočeské chemické závody — Ostböhmische chemische Werke),

welches mit einem Schmelzpunkt von 70° C den Anforderungen der Literatur entspricht. Man mischt gleiche Teile einer gesättigten Tetraäthylthiuramdisulfidlösung in 50%igem Äthanol und einer gesättigten Kupfer(II)-sulfatlösung in demselben Lösungsmittel und läßt das Ganze 48 Std lang stehen. Die abgeschiedenen dunklen Kristalle der komplexen Verbindung des Kupfers mit Tetraäthylthiuramdisulfid werden abgesaugt, mit Wasser und zuletzt mit einer kleinen Menge Äthanol gewaschen und getrocknet. Zur Quecksilberbestimmung wird eine Lösung verwendet, welche 10 mg Merkupral in 250 ml Benzol p. a. enthält.

Acetatpuffer. Man löst 250 g $CH_3COONa \cdot 3\ H_2O$ in ungefähr 500 ml destilliertem Wasser, setzt 59 ml Eisessig zu und füllt mit destilliertem Wasser zu 600 ml auf.

Apparatur. Die photometrischen Messungen können mit Spektrophotometern bei einer Wellenlänge von 420 mμ oder mit Filterphotometern unter Verwendung eines violetten bis blauen Filters ausgeführt werden. Zu den Messungen hat sich z. B. das Zeiss-Pulfrich-Photometer mit dem Filter S 42 bewährt. Das Maximum der Absorption wurde mit einem Koucký-Spektrophotometer gemessen.

Aufschluß der Probe

Für den Aufschluß der Probe wurde, wie bereits erwähnt, das Destillationsverfahren verwendet und die auf diese Weise erzielten Ergebnisse wurden mit der modifizierten Eschka-Methode[3] verglichen. Tab. 1 gibt eine Reihe dieser Ergebnisse wieder.

Tabelle 1

Probe Nr.	% Quecksilber gefunden		Abweichung in %
	durch Destillation	nach Eschka	
1	0,12	0,10	— 0,02
2	0,11	0,08	— 0,03
3	0,14	0,09	— 0,05
4	3,40	3,21	— 0,19
5	3,39	3,23	— 0,16

Die mit dem Eschka-Verfahren erzielten niedrigeren Ergebnisse sind durch die nicht völlig quantitative Destillation des Quecksilbers beim Erhitzen des Analysengutes mit Eisenpulver und Zinkoxyd bedingt. Auf Grund dieser und einer Reihe weiterer Versuche kann das Destillationsverfahren als völlig befriedigend angesehen werden; wir haben es aus diesem Grunde bei allen weiteren Arbeiten benutzt.

Die photometrische Bestimmung des Quecksilbers

Die Versuche zur Bestimmung des Quecksilbers mit Merkupral wurden folgendermaßen ausgeführt:

Zu ungefähr 50 ml der in einem Scheidetrichter befindlichen Lösung, welche Quecksilberionen in steigender Konzentration enthielt, wurden zu 15 ml Benzol 2 ml einer Benzollösung des Merkuprals zugesetzt und das Ganze wurde 3 min lang gründlich geschüttelt. Nach Abtrennung der Benzolschicht wurde diese in einen 25 ml-Meßkolben übergeführt und bis zur Marke mit Äthanol aufgefüllt. Nach gründlichem Umschütteln wurde die Extinktion der Lösung mit einem Pulfrich-Photometer mit dem Filter S 42 gemessen.

Die in einer Eichkurve aufgestellten Ergebnisse sind aus Abb. 1 ersichtlich.

Aus einer Reihe untersuchter organischer Lösungsmittel hat sich für das Merkupral am besten Benzol bewährt, in welchem das Merkupral unter Bildung einer stabilen, gelbbraunen Lösung sehr gut löslich ist. Eine Schwächung der Farbintensität der Lösung konnte nicht einmal nach 30 Tagen bemerkt werden. Durch Messung des Absorptionsmaximums wurde die Berechtigung zur Verwendung eines Filters mit einer maximalen Durchlässigkeit von 420—430 mμ bestätigt. Abb. 2 zeigt 3 Kurven, welche durch Messung der Extinktion in Abhängigkeit von der Wellenlänge des durchfallenden Lichtes erhalten wurden.

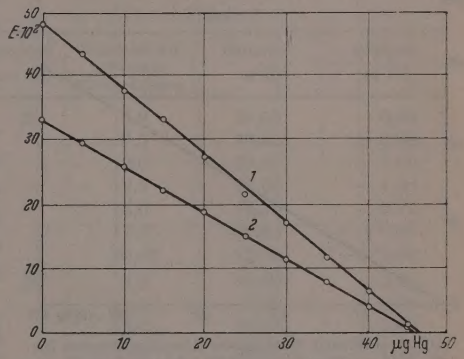


Abb. 1. Eichkurven der Quecksilberbestimmung, Zeiss-Pulfrich-Photometer, 50 mm-Küvetten. Kurve *1* Filter S 42; Kurve *2* Filter S 47

Da die Menge des zugesetzten Merkuprals bei der Bestimmung des Quecksilbers je nach den Arbeitsbedingungen zu wählen ist (Empfindlichkeit des benutzten Gerätes, Schichtdicke usw.), ist es nötig, das Gebiet, in dem das Lambert-Beersche Gesetz für diese Lösung gilt, zu finden. Darum haben wir eine ganze Reihe von Messungen durchgeführt, welche die Extinktion in Abhängigkeit von der Menge des zugesetzten Merkuprals — und damit auch von der Farbintensität — verfolgen.

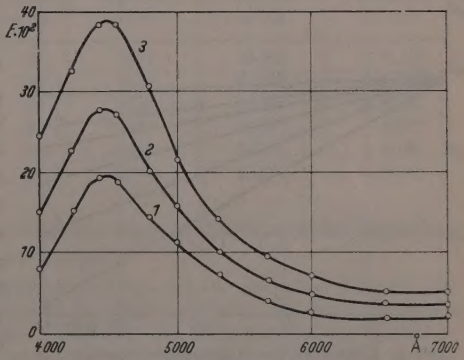


Abb. 2. Absorptionsmaximum der Merkuprallösung, Koucký-Spektrophotometer, 10 mm-Küvetten. Kurve *1* 30 μg Cu; Kurve *2* 45 μg Cu; Kurve *3* 60 μg Cu

Abb. 3 (S. 324) zeigt das Gebiet, in dem das Lambert-Beersche Gesetz unter den angewendeten Arbeitsbedingungen erfüllt ist.

Da bei dem benutzten Destillationsverfahren das Destillat eine bedeutende Menge freies Chlor enthält, welches die Farbintensität abschwächt und damit die Bestimmung unmöglich macht, mußte ein Weg gefunden werden, um das freie Chlor aus dem Destillat zu entfernen, ohne die Bestimmung mit neuen störenden Einflüssen zu belasten. Es

wurde festgestellt, daß das Chlor am besten durch Reduktion mit Eisen(II)-sulfat entfernt werden kann, wogegen sich eine ganze Reihe anderer, wirksamer Reduktionsmittel (wie z. B. Hydroxylamin, Hydrazin und andere) nicht bewährte. Wie Tab. 2 zeigt, stört 2- und 3-wertiges Eisen auch in bedeutendem Überschuß die Bestimmung nicht.

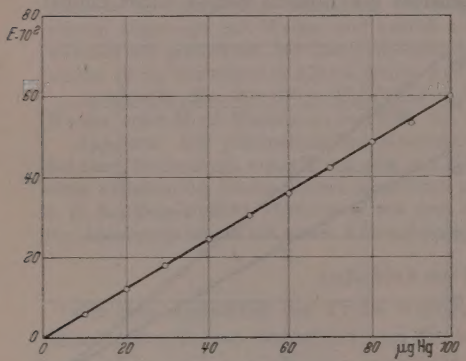


Abb. 3. Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes für die Merkuprallösung in Benzol. Zeiss-Pulfrich-Photometer, 50 mm-Küvetten

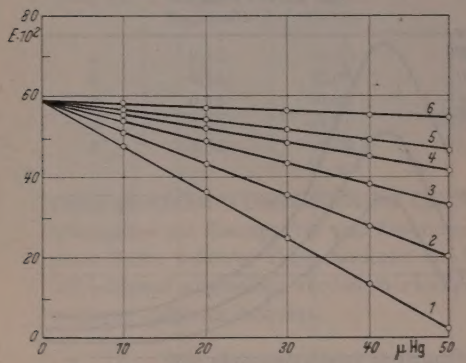


Abb. 4. Eichkurven der Quecksilberbestimmung mit Merkupral bei verschiedenen Salzsäurekonzentrationen. Zeiss-Pulfrich-Photometer, 50 mm-Küvetten. Kurve *1* 0—1 ml konz. Salzsäure; Kurve *2* 2 ml konz. Salzsäure; Kurve *3* 3 ml konz. Salzsäure; Kurve *4* 4 ml konz. Salzsäure; Kurve *5* 5 ml konz. Salzsäure; Kurve *6* 10 ml konz. Salzsäure

Bei der Bestimmung des Quecksilbers im Destillat wird daher stets ein Überschuß von Eisen(II)-sulfat hinzugefügt. (Die Lösung darf nicht nach freiem Chlor riechen).

Unter diesen Arbeitsbedingungen mußten jedoch noch die Ergebnisse, welche früher[7] bei der Verfolgung des Einflusses der Acidität auf die photometrische Bestimmung des Quecksilbers mit Merkupral erzielt wurden, überprüft und revidiert werden. Es wurde die Farbintensität in Abhängigkeit von einer steigenden Salzsäurekonzentration der Lösung verfolgt und dabei festgestellt, daß mit steigender Salzsäurekonzentration auch die Extinktion der Lösung ansteigt. Obwohl die Extinktionskurven bei Einhaltung konstanter Acidität linear sind (Abb. 4), versuchten wir dennoch einen Modus zu finden, den p_H-Wert der Lösung einzustellen und damit auch bei nicht eingehaltener Säurekonzentration die Bedingungen für eine verläßliche Bestimmung zu finden. Es wurde festgestellt, daß die optimalen Bedingungen bei Verwendung eines Acetatpuffers vom p_H-Wert 5 gegeben sind. Die Verwendung dieses Puffers verursacht keine weiteren Komplikationen und eliminiert völlig

verläßlich den Einfluß überschüssiger freier Säure. Die organische Schicht muß jedoch noch vor Ablassen 1- oder 2mal mit destilliertem Wasser geschüttelt werden, um den Großteil der Salze zu entfernen, welche beim Auffüllen der Benzollösung mit Äthanol eine Trübung der Lösung zur Folge haben könnten.

Da dieses Verfahren vor allem auf Tetraedritproben angewendet werden sollte, mußte noch festgestellt werden, ob Antimon, das bei der Destillation zum Großteil in das Destillat übergehen kann, nicht die Bestimmung des Quecksilbers ungünstig beeinflußt. Tab. 3 beweist, daß nicht einmal ein bedeutender Überschuß an Antimon die Bestimmung stört.

Tabelle 2

Gegeben µg Hg	Zugesetzt ml gesättigte $FeSO_4$-Lösung	Gefunden µg Hg	Differenz µg Hg
20	5,0	19,50	— 0,50
	7,5	20,00	± 0,00
	10,0	20,00	± 0,00
	12,5	21,00	+ 1,00
	15,0	19,80	— 0,20
	17,5	20,00	± 0,00
	20,00	22,00	+ 2,00
30	5,0	30,00	± 0,00
	10,0	31,00	+ 1,00
	15,0	30,00	± 0,00
	20,0	31,25	+ 1,25

Tabelle 3

Gegeben µg Hg	Zugesetzt µg Sb^{3+}	Gefunden µg Hg	Differenz µg Hg
20	500	20,25	+ 0,25
30	500	30,00	± 0,00
20	1000	21,00	+ 1,00
30	1000	30,00	± 0,00
30	5000	30,00	± 0,00
30	5000	29,50	— 0,50

Die Bestimmung des Quecksilbers in Erzen

Auf Grund der angeführten Erfahrungen kann die photometrische Bestimmung von kleinen Quecksilbermengen in Erzen nach der folgenden Arbeitsvorschrift durchgeführt werden:

Man wägt je nach dem Quecksilbergehalt 0,2—5 g der Probe ein, feuchtet mit einigen Tropfen Wasser an, übergießt das Ganze mit einer Mischung aus konz. Salzsäure und konz. Salpetersäure im Verhältnis 3:1 bis 4:1 und erhitzt vorsichtig auf dem Sandbad bis zur Vertreibung der Stickstoffoxyde. Danach spült man den Inhalt des Becherglases mit einer möglichst kleinen Menge Wasser in ein 100 ml-Destillationskölbchen einer Destillationsapparatur mit Schliffverbindungen und fügt 20 ml Schwefelsäure 1:1 zu. Nun schließt man die Apparatur, destilliert und fängt das Destillat in einen 100 ml- bzw. 250 ml-Maßkolben auf. Man destilliert bis zum Auftreten von SO_3-Nebeln und läßt dann aus dem Tropftrichter 25 ml Salzsäure 1:1 zutropfen und zwar so, daß das ganze Hinzufügen ungefähr 45 min dauert. Die Temperatur soll sich während der Destillation zwischen 110 und 130° C bewegen. Da bei dem Zutropfen der Salzsäure die Lösung heftig aufkocht, ist es vorteilhaft, noch vor Beginn der Destillation Glaskugeln in das Destillationskölbchen einzubringen, um ein regelmäßiges und gleichmäßiges Sieden zu sichern. Nach beendeter Destillation spült man den Kühler mit destilliertem Wasser und füllt das Destillat bis zur Marke auf. Zur eigentlichen Bestimmung pipettiert man

nun einen aliquoten Teil in einen Scheidetrichter, fügt 10 ml einer gesättigten Eisen(II)-sulfatlösung zu und mischt gut durch. Nun setzt man 20—50 ml Acetatpuffer (und zwar so viel, daß sich der p_H-Wert 5 einstellt), 15 ml Benzol und 2 ml der Merkuprallösung zu und schüttelt 3—5 min. Man läßt die wäßrige Phase ab, schüttelt die Benzolschicht noch zweimal mit destilliertem Wasser, führt sie dann in ein 25 ml-Meßkölbchen über und füllt mit Äthanol bis zur Marke auf. Nach dem Umschütteln mißt man die Extinktion der Lösung bei einer Wellenlänge von 420 bis 430 mμ (violettes oder blaues Filter) und bestimmt den Quecksilbergehalt aus der Eichkurve.

Tab. 4 enthält einige Ergebnisse der Quecksilberbestimmung in Erzen.

Tabelle 4

Probe Nr.	Einwaage in g	% Hg gefunden		Differenz % Hg
		massanal.	photometr.	
1	1,0	0,027	0,025	— 0,002
	1,0	0,025	0,024	— 0,001
	1,0	0,024	0,025	+ 0,001
2	0,5	0,13	0,122	— 0,008
	0,5	0,12	0,121	+ 0,001
	0,5	0,12	0,115	— 0,005
3	1,0	—	0,009	—
	1,0	—	0,008	—
	1,0	—	0,009	—
4	0,2	0,12	0,110	— 0,010
	0,2	0,11	0,108	— 0,002
	0,2	0,10	0,115	+ 0,015
5	2,0	—	0,004	—
	2,0	—	0,004	—
	2,0	—	0,004	—

Zusammenfassung

Tetraäthylthiuramdisulfid (Dikupral) bildet mit Kupfer(II)-ionen einen intensiv gefärbten, gelbbraunen, mit Quecksilber(II)- und Silberionen einen stabileren, jedoch farblosen Komplex. Dies wird in der vorliegenden Arbeit zur indirekten photometrischen Bestimmung des Quecksilbers in anorganischen Materialien benutzt. Als Reagens wird eine Lösung des isolierten Komplexes des Dikuprals mit Kupfer (Merkupral) in Benzol verwendet. Das beschriebene Extraktionsverfahren mit darauffolgender photometrischer Bestimmung ermöglicht es, Quecksilbergehalte bis herab zu 0,001% Hg in verschiedenen Materialien verläßlich zu bestimmen. Das Quecksilber wird nach Säureaufschluß des Analysengutes von der Mehrzahl der übrigen Elemente durch Destillation getrennt.

Literatur

[1] Biedermann, W., u. G. Schwarzenbach: Chimia (Zürich) **2**, 1 (1948). — [2] Ensslin, F., H. Dreyer u. O. Lessmann: diese Z. **149**, 25 (1956). — [3] Michal, J., J. Jankovský u. E. Pavlíková: diese Z. **153**, 83 (1956). — [4] Michal, J., u.

J. Zýka: Chem. Listy **48**, 915 (1954); vgl. diese Z. **145**, 41 (1955). — [5] Michal, J., u. J. Zýka: Chem. Listy **48**, 1043 (1954); vgl. diese Z. **145**, 42 (1955). — [6] Michal, J., u. J. Zýka: Chem. Listy **48**, 1338 (1954); vgl. diese Z. **147**, 133 (1955). — [7] Michal, J., u. J. Zýka: Chem. Listy **51**, 56 (1957); vgl. diese Z. **158**, 364 (1957). — [8] Michal, J., u. J. Zýka: Collect. czechoslov. chem. Commun. **20**, 305 (1955); inhaltlich übereinstimmend mit [4,5,6]. — [9] Michal, J., u. J. Zýka: Věstník Ústředního ústavu geologického **30**, 33 (1955).

Dr. Jan Michal, Institut für Erzforschung, Modřanská 23, Prag 15

Aus dem Pharmakologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. Dr. phil. et med. F. Holtz)

Beitrag zur colorimetrischen Bestimmung des Vitamins A mit verschiedenen Chlorhydrinen

(Vorläufige Mitteilung)

Von
S. Erbe

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. August 1957)

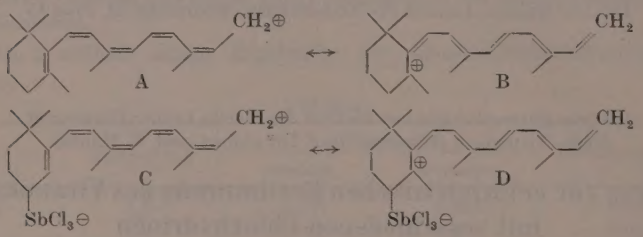
Für die Bestimmung des Vitamins A ist eine Vielzahl von Methoden angegeben worden. Heute werden jedoch nur noch einzelne aus dieser großen Auswahl benutzt, da die meisten Verfahren zu wenig spezifisch, zu kostspielig, zu diffizil oder zu zeitraubend sind.

Unter den biologischen Methoden gewinnt neben dem Wachstumstest die Kolpokeratosemethode[7,11,13] immer mehr an Bedeutung. Als physikalisch-chemische Bestimmung hat sich in den letzten Jahren die spektrophotometrische Methodik[1,12,15] ihren Platz in den modernen Forschungs- und Untersuchungslaboratorien erobert.

Unter den chemischen Methoden stehen die colorimetrischen an erster Stelle. Die größte derzeitige Bedeutung kommt der Reaktion mit $SbCl_3$ nach Carr u. Price[2] in ihren verschiedenen Abwandlungen und Verbesserungen[3,6,8] zu. Doch wird auch der Bestimmung mit Glycerindichlorhydrin nach Sobel u. Werbin[14] in neuerer Zeit gesteigertes Interesse entgegengebracht. Wodsak[17] empfiehlt diese Methode wegen der langen Konstanz der Farbausbildung. Fujita u. Aoyama[5] beschreiben die chromatographische Trennung von Vitamin A von Stoffen, die die Farbreaktion mit Glycerindichlorhydrin stören.

Die blaue Färbung, die bei der Carr-Price-Reaktion auftritt, wird auf Grund der Elektronenvalenztheorie als Halochromiereaktion gedeutet[10]. Ihr Mechanismus soll identisch sein mit dem der blauen Färbungen, die

bei der Adsorption von Vitamin A an sauren Tonen manchmal auftreten[9]. Nach Meunier[10] werden die Färbungen durch ionisierende Adsorption von $SbCl_3$ an Vitamin A hervorgerufen. Dabei reagiert das einsame Elektronenpaar der OH-Gruppe unter Bildung einer Oxoniumverbindung, die sich zu dem mesomeren System A B stabilisiert, das dann die Halochromiereaktion (C D) eingeht[16]:



Eine ähnliche ionisierende Adsorption haben wir uns auch im Falle des Glycerindichlorhydrins vorzustellen.

Nach eigenen Arbeiten mit diesem Reagens wurden schon früher Untersuchungen über ein verwandtes Reagens begonnen[4], die nunmehr vervollständigt und erweitert wurden.

Auf ihre Eignung als Reagentien zur VitaminA-Bestimmung wurden geprüft:

1. 1,2-Propylenchlorhydrin (1,2-PCH),
2. 1,3-Propylenchlorhydrin (1,3-PCH),
3. Glycerin-α-monochlorhydrin (GMH).

Alle 3 Reagentien wurden im Vakuum bei 10—20 mm Hg unter Zusatz von 2% Antimontrichlorid einer aktivierenden Destillation unterworfen analog der Aktivierung von Glycerindichlorhydrin nach Sobel u. Werbin[14].

Eine orientierende qualitative Reaktion ergab nur im Falle des GMH in der Kälte eine brauchbare deutliche Färbung. Es trat wie bei GDH zunächst eine kornblumenblaue Färbung auf, die dann schnell in Violett überging.

Bei 1,2-PCH und bei 1,3-PCH trat nur bei sehr langem Stehen eine schwache grüne Farbe auf. Diese geringe Färbung war für colorimetrische Bestimmungen nicht brauchbar, da sie nicht voll ausgebildet wurde. Durch 2 min langes Erwärmen im Wasserbad auf 60—70° C konnte die maximale Farbintensität erhalten werden.

Da uns ein Spektralphotometer nicht zur Verfügung stand, wurde das Spektrum der erhaltenen Färbungen nur mit Hilfe eines Stufenphotometers aufgenommen. Abb. 1—4 (S. 329, 330) zeigen die Spektren der erhaltenen Färbungen von 697,5 μg Vitamin A-Acetat (gelöst in 1 ml Chloroform)

mit je 3 ml 1,2-PCH (Abb. 1), 1,3-PCH (Abb. 2), GMH in der Kälte (Abb. 3, S. 330) und GMH in der Wärme (Abb. 4, S. 330) und die zeitlichen Verände-

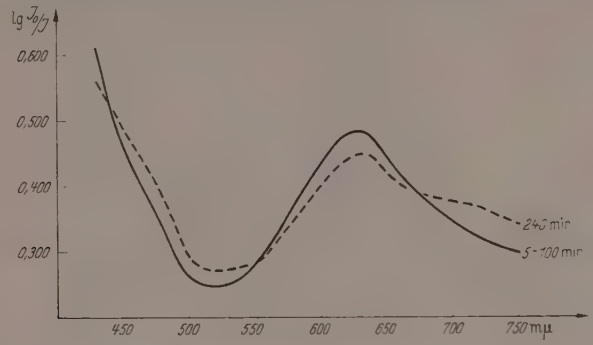


Abb. 1. Farbreaktion von Vitamin A mit 1,2-PCH

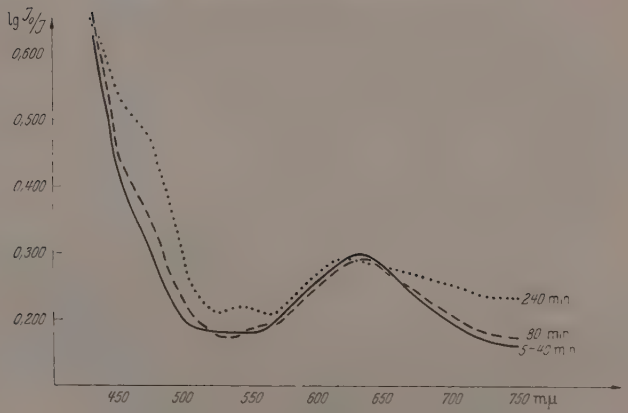


Abb. 2. Farbreaktion von Vitamin A mit 1,3-PCH

rungen der Farbqualitäten der betreffenden Reaktionen. Die Zeiträume, während derer die Intensitäten der ausgebildeten Färbungen konstant bleiben, und die auswertbaren Maxima sind in Tab. 1 aufgezeigt.

In bezug auf die lange Farbkonstanz sind 1,2-PCH und 1,3-PCH die besten Reagentien. In der Intensität der Färbung werden sie jedoch von GMH übertroffen (Abb. 5, S. 331).

Tabelle 1

Reagens	Konstanz der Färbung min	Maximum mμ
1,2-PCH	5 bis 100	630
1,3-PCH	5 „ 60	630
GMH_{kalt}	5 „ 15	550
GMH_{warm}	2 „ 5	550

Diese Färbungen mit GMH sind zu wenig konstant und wesentlich weniger intensiv als die mit Glycerindichlorhydrin erhaltenen Färbungen. Somit stellt die Reaktion mit GMH keine Verbesserung der

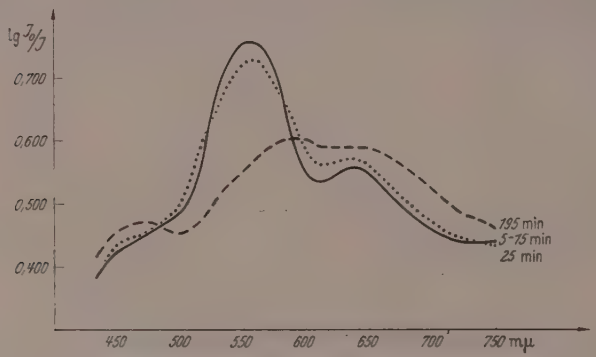


Abb. 3. Farbreaktion von Vitamin A mit GMH in der Kälte

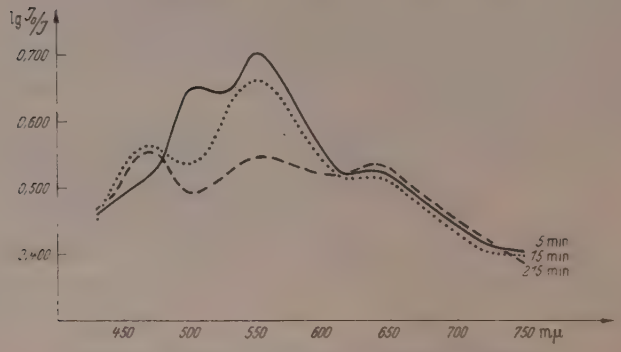


Abb. 4. Farbreaktion von Vitamin A mit GMH in der Wärme

Bestimmungsmethodik dar. Nur 1,2-PCH und 1,3-PCH haben erheblich längere Farbkonstanz und könnten daher für Serienuntersuchungen geeignet sein.

Die Anwendbarkeit einer gut meßbaren Farbreaktion zur quantitativen Bestimmung wird um so besser, je mehr die Farbausbildung dem Lambert-Beerschen Gesetz gehorcht. In Abb. 6 sind die Eichkurven für die Vitamin A-Bestimmung mit 1,2-PCH, 1,3-PCH und GMH_{kalt} abgebildet. Die ausgebildeten Färbungen gehorchen im Falle des 1,2-PCH und des 1,3-PCH dem Lambert-Beerschen Gesetz, wogegen GMH zunächst eine stärker, bei höheren Vitamin A-Mengen jedoch flacher ansteigende Eichkurve liefert (Exponentialfunktion?).

Aus dem Steigungsverhältnis der Kurven berechnet sich der Faktor F, der mit der ermittelten Extinktion multipliziert den Vitamin A-Gehalt

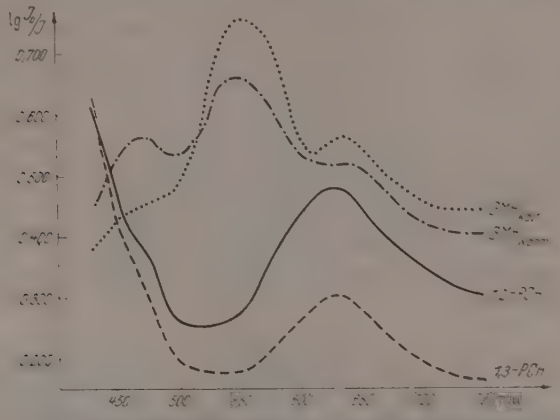


Abb. 5. Farbreaktion von Vitamin A mit verschiedenen Chlorhydrinen

im Milliliter ergibt. Im Falle des 1,2-PCH beträgt dieser Faktor 1585, bei 1,3-PCH beträgt er 2270. Der Gehalt an μg Vitamin A-Acetat berechnet sich also zu

μg Vit. A-Ac. = 1585 · log I_o/I (bei Verwendung von 1,2-PCH)
μg Vit. A-Ac. = 2270 · log I_o/I (bei Verwendung von 1,3-PCH[1])

Alle 3 Reaktionen sind zur quantitativen Auswertung von Vitamin A-Lösungen geeignet. Die gefundenen Werte differieren bei 1,2-PCH um $\pm$ 4%, bei 1,3-PCH um $\pm$ 4,8% und bei GMH um $\pm$ 7,5% vom Realwert der Einwaage.

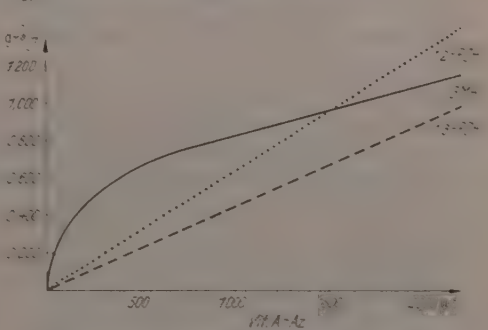


Abb. 6. Eichkurven für die Vitamin A-Bestimmung

Die Untersuchungen über die Spezifität der Reaktionen bzw. über störende Faktoren (z. B. Antioxydantien, Calciferol usw.) sind noch nicht abgeschlossen. Sie bleiben weiteren eingehenden Studien vorbehalten.

Literatur

[1] Brit. Pharmacop. 1953, S. 844. — [2] Carr, F. H., and E. A. Price: Biochemic. J. **20**, 497 (1926); vgl. diese Z. **97**, 462 (1934). — [3] Erbe, S.: Pharmaz. Zentralhalle

Deutschland. **1957** (z. Zt. im Druck). — [4] Erbe, S.: Diss. Halle 1956. — [5] Fujita, A., and M. Aoyama: J. Biochemistry (Tokyo) **40**, 151 (1953). — [6] Fujita, A., and T. Sakamoto: Biochem. Z. **308**, 334 (1941); vgl. diese Z. **127**, 217 (1944). — [7] Hohlweg, W., u. M. Dohrn: Z. exper. Med. **71**, 762 (1930). — [8] Lodi, M.: Vitamine und Hormone **4**, 401 (1943). — [9] Lowman, A.: Science (Lancaster, Pa.) **101**, 183 (1945). — [10] Meunier, P.: C. R. Acad. Sci. (Paris) **215**, 470 (1942). — [11] Moll, Th., O. Dalmer, P. v. Dobeneck, G. Domagk u. F. Laquer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **170**, 176 (1933); vgl. diese Z. **102**, 77 (1935). — [12] Morton, R. A., and A. L. Stubbs: Analyst **71**, 348 (1946). — [13] Pugsley, L. J., G. Wills and W. A. Crandall: J. Nutrit. **28**, 365 (1946). — [14] Sobel, A. E., and H. Werbin: Analyt. Chemistry **19**, 107 (1947); vgl. diese Z. **129**, 308 (1949). — J. biol. Chemistry. **159**, 681 (1945). — [15] US Pharmacop. XV, S. 941. — [16] zit. nach VogelKnobloch, Chemie und Technik der Vitamine. Stuttgart: F. Enke 1950. — [17] Wodsak, W.: Pharmazie **5**, 520 (1950); vgl. diese Z. **133**, 388 (1951).

Dr. Siegfried Erbe, VEB Chemische Fabrik von Heyden, Radebeul bei Dresden

---

From the Chemical Laboratories, University of Allahabad, Allahabad (India)

Chromatographic Study of Anionic Complexes

Part I

Complex Cuprioxalate

By

Eric John Singh and Arun K. Dey

(Eingegangen am 2. September 1957)

In a previous paper[1] we have attempted to study the variation of R_f values of certain metal ions with the formation of complex cations with ammonia. Formation of anionic complexes especially with an organic acid like citrate[5] has often led to valuable results in the separation of metals. The formation of complexes and their stability in chromatographic study was investigated by Pollard et al.[2,3]. Most of the previous workers studied the complexing property by adding the complexing agent either in the solvent or by impregnating the filter paper with the reagent. These experiments create conditions where only the action of an excess of the complexing agent may be seen. The dependence of the diffusion on the variations in the concentration of the complexing agent has not received much attention. In this paper we have studied the diffusion of the complex ions formed between cupric ions and varying proportions of oxalate ion.

Experimental

Standard solutions of copper sulphate BDH AR crystals and of potassium oxalate BDH AR were prepared. Mixtures containing a constant volume of copper sulphate with varying proportions of potassium oxalate were prepared. The arrangement for

chromatography was that described by GAGE, DOUGLASS and WENDER[1] of ascending filter paper strip method. The solvent used was 50% ethanol. The chromatograms were developed with a dilute potassium ferrocyanide solution. The experiments were conducted at a room temperature of 29° C and the time allowed was 90 minutes. The experimental results are presented in Tables 1 and 2.

Table 1. *Final Concentration of Cu SO_4, 0.05 M solution*

No.	Ratio $Cu^{2+} : C_2O_4^{2-}$	R_f Value	Remarks
1	1: 0	0.62	Tailing in chromatogram
2	1: 0.4	0.50	Precipitation; Tailing in chromatogram
3	1: 0.8	0.45	Precipitation; Tailing in chromatogram
4	1: 1.2	0.29	Precipitation; Tailing in chromatogram
5	1: 1.6	0.27	Precipitation; Tailing in chromatogram
6	1: 2.0	0.08	Precipitation; Tailing in chromatogram
7	1: 2.8	0.80	Slight precipitation; No tailing in the chromatogram
8	1: 4.0	0.84	Slight precipitation; No tailing in the chromatogram
9	1: 5.2	0.85	No precipitation; No tailing in chromatogram
10	1: 6.0	0.85	No precipitation; No tailing in chromatogram
11	1: 6.8	0.80	No precipitation; No tailing in chromatogram
12	1: 8.0	0.79	No precipitation; No tailing in chromatogram
13	1:10.0	0.79	No precipitation; No tailing in chromatogram
14	1:12.0	0.79	No precipitation; No tailing in chromatogram
15	1:16.0	0.78	No precipitation; No tailing in chromatogram
16	1:20.0	0.78	No precipitation; No tailing in chromatogram

Table 2. *Final Concentration of $CuSO_4$, 0.025 M solution*

No.	Ratio $Cu^{2+} : C_2O_4^{2-}$	R_f Value	Remarks
1	1: 0	0.47	Tailing in chromatogram
2	1: 0.4	0.30	Precipitation; Tailing in chromatogram
3	1: 0.8	0.29	Precipitation; Tailing in chromatogram
4	1: 1.2	0.18	Precipitation; Tailing in chromatogram
5	1: 1.6	0.12	Precipitation; Tailing in chromatogram
6	1: 2.0	0	Precipitation
7	1: 2.8	0.78	Slight precipitation; No tailing in chromatogram
8	1: 3.2	0.80	Slight precipitation; No tailing in chromatogram
9	1: 3.6	0.80	Slight precipitation; No tailing in chromatogram
10	1: 4.0	0.81	Slight precipitation; No tailing in chromatogram
11	1: 5.2	0.82	No precipitation; No tailing in chromatogram
12	1: 6.0	0.84	No precipitation; No tailing in chromatogram
13	1: 6.8	0.87	No precipitation; No tailing in chromatogram
14	1: 8.0	0.86	No precipitation; No tailing in chromatogram
15	1:10.0	0.85	No precipitation; No tailing in chromatogram
16	1:12.0	0.80	No precipitation; No tailing in chromatogram
17	1:16.0	0.80	No precipitation; No tailing in chromatogram
18	1:20.0	0.80	No precipitation; No tailing in chromatogram

It may be noted from the observations recorded in Table 1, that the R_f values decrease till there is precipitation, but begin to increase as soon as dissolution occurs. The values increase to a maximum of 0.85 and then there is a slight tendency of decrease in R_f values. From No. 11 onwards crystallisation occurs on allowing the solutions to stand.

In a second set of experiments observations were repeated using copper sulphate diluted twice. The results are given in Table 2 (p. 333).

The observations are similar of those in Table 1. In both the cases the redissolution of the precipitated oxalate occurs at 5.2 equivalents of oxalate. There is a slight decrease of R_f values with a large excess of oxalate ions.

Summary

In this paper the variation of diffusion, through a filter paper strip by the ascending method, of cuprioxalate complex has been studied. Various mixtures of Cu^{2+}:$C_2O_4^{2-}$ ions have been investigated. It has been noted that till there is a precipitation, the R_f values tend to decrease and finally reach nearly to zero, when the oxalate precipitates completely. With redissolution of the precipitate to form the complex anion, R_f values increase again to a maximum and then have a slight tendency to diminish. No tailing occurs in the chromatograms in cases where the copper has passed into the anion.

References

[1] Gage, Th. B., C. D. Douglas and S. H. Wender: J. chem. Educat. **27**, 159 (1950). — [2] Pollard, F. H., I. I. M. Elbeih and J. F. W. McOmie, Discuss. Faraday Soc. **7**, 183 (1949). — [3] Pollard, F. H., J. F. W. McOmie and I. I. M. Elbeih: J. chem. Soc. (London) **1951**, 470; cf. Z. analyt. Chem. **136**, 279 (1952). — [4] Singh, E. J., and A. K. Dey: Z. analyt. Chem. **159**, 290 (1958). — [5] Spedding, F. H.: Discuss. Faraday Soc. **7**, 214 (1949).

Dr. A. K. Dey, Department of Chemistry, University of Allahabad, Allahabad (India)

Laboratorio da Produção Mineral — Ministerio da Agricultura
Rio de Janeiro, Brasil

Nachweis von organischen Oxydantien in der Tüpfelanalyse

Unterscheidung von Chloramin T und Alkalihypochlorit

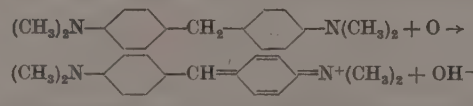
Von
F. Feigl und R. A. Rosell

(Eingegangen am 3. September 1957)

Zum Nachweis von organischen Oxydantien sind in der Tüpfelanalyse bisher zwei aus der Makroanalyse bekannte Redoxreaktionen verwendet worden[2]: Die Abscheidung von Jod aus angesäuerten Alkalijodidlösungen, und die von Hearon u. Gustavson[8] empfohlene Überführung von grünem Eisen(II)-hydroxyd in braunes Eisen(III)-hydroxyd in alkalischem Milieu. Beide Verfahren haben den Nachteil, daß sie auf Verbindungen beschränkt sind, die in wäßrigem Alkohol eine merkliche Löslichkeit besitzen.

Die Möglichkeit, organische Oxydantien durch Redoxreaktionen mit organischen Partnern — und allenfalls in einem nichtwäßrigem Milieu — nachzuweisen, ist bisher nicht geprüft worden. Bei diesbezüglichen Untersuchungen wurde gefunden, daß das braungelbe Thio-Michlersche Keton (4,4′-Bis-dimethylaminothiobenzophenon) und die farblose Tetrabase (Tetramethyldiaminodiphenylmethan), deren Oxydation in neutraler oder schwach essigsaurer Lösung zu blauen, p-chinoiden Verbindungen führt, als Reagentien zum Nachweis gewisser organischer Oxydantien herangezogen werden können.

Der Chemismus der Oxydation von Thio-Michlers Keton ist bei der Beschreibung eines neuen Nachweises von Chlorspuren in Feinchemikalien[5] und von Chlor in Mineralien und Gesteinen[4] diskutiert worden. Bei der Oxydation von Tetrabase entsteht ein Diphenylmethanfarbstoff[9] gemäß:



Organische Verbindungen, die mit Thio-Michlerschem Keton und Tetrabase reagieren, sind: Polyhalide von organischen Basen und deren Salze mit Halogenwasserstoffsäuren, Benzochinon und tetrahalogeniertes Benzochinon, Benzoylperoxyd und Halo-imide und -amide von Mono- und Dicarbonsäuren, die formal[10] als Derivate von unterhalogenigen Säuren betrachtet werden können.

Chloramin B und Chloramin T reagieren bemerkenswerterweise nur mit Thio-Michlerschem Keton und nicht mit der Tetrabase.

Per-Verbindungen mit >C-OOH Gruppen, Arsonsäuren und Aminoxyde, die wie die meisten oben genannten Verbindungen aus sauren Alkalijodidlösungen Jod in Freiheit setzen, reagieren weder mit Thio-Michlerschem Keton noch mit Tetrabase.

Nitro- und Nitrosoverbindungen sowie Derivate des Hydroxylamins und Hydrazins, die nach Hearon u. Gustavson[8] Ferro- zu Ferrihydroxyd oxydieren, bewirken keine Oxydation von Thio-Michlerschem Keton und Tetrabase zu blauen chinoiden Verbindungen. Es ist jedoch zu beachten, daß Nitroverbindungen mit diesen beiden tertiären Basen orangefarbige Molekülverbindungen bilden[3].

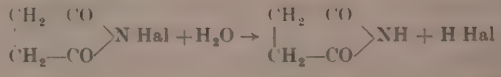
Arbeitsweise. Es werden Reagenspapiere verwendet, die durch Tränken von quantitativem Filtrierpapier mit 0,1%iger benzolischer Lösung von Thio-Michlers Keton bzw. einer 2,5%igen benzolischen Lösung von Tetrabase und Trocknen hergestellt werden. (Die Reagenspapiere sind, unter Lichtabschluß aufbewahrt, haltbar.) Bei Aufbringung eines Tropfens der Probelösung auf das gelbe bzw. farblose Reagenspapier entsteht — allenfalls nach Verdunsten des Lösungsmittels — ein blauer Fleck oder Ring.

Das Verhalten der bisher geprüften, in neutralem Milieu wirksamen Oxydantien und die erreichbaren Erfassungsgrenzen der Nachweise sind aus Tab. 1 ersichtlich:

Tabelle 1

Name	Erfassungsgrenze in μg		Lösungsmittel
	Tetrabase	Thio-M.-Keton	
Chloramin B	—	0,04	Wasser
Chloramin T	—	0,04	Wasser
N-Br-Succinimid	0,5	0,06	Wasser
N-Cl-Succinimid	0,5	0,06	Wasser
Chloranil	0,12	0,12	Äther oder Benzol
Bromanil	0,12	0,12	Äther oder Benzol
Benzoylperoxyd	1,2	1,2	Äther oder Benzol

Ein recht interessantes Verhalten zeigen N-Brom-(Chlor-)succinimid (wahrscheinlich auch die Jodverbindung) gegenüber alkalischen Lösungen von Thallium(I)-salzen. Sie bewirken sofortige Abscheidung eines dunkelbraunen Niederschlages von Thallium(III)-oxydhydrat durch die Reaktionsfolge



$$Tl^+ + HalO^- + OH \rightarrow TlO(OH) + Hal^- \qquad (2)$$

Keines der anderen in der Tabelle angeführten Oxydantien verhält sich analog; alkoholische Lösungen von organischen Peroxyden reagieren, wenn überhaupt, dann nur langsam und in großen Mengen.

Die Umsetzung mit einer alkalischen 4%igen Thallium(I)-sulfatlösung kann als Tropfenreaktion auf einer Tüpfelplatte ausgeführt werden. Die Erfassungsgrenze beträgt 3 μg N-Brom-(Chlor-)succinimid.

Für N-Brom- und Chlor-succinimid ist das Verhalten zu Fluorescein charakteristisch. Wird Filterpapier mit einer bei 50° C gesättigten alkoholischen Lösung von Fluorescein imprägniert und auf das trockne Papier ein Tropfen einer verdünnten wäßrigen oder alkoholischen Lösung von N-Brom-succinimid gebracht, so entsteht auf dem gelben Reagenspapier ein roter Fleck oder Ring von Tetrabromfluorescein (Erf. Gr. 3 μg N-Bromsuccinimid). N-Chlorsuccinimid zeigt diese für elementares Brom (oder HBrO) charakteristische Eosinreaktion[7] nicht. Wird ein mit Kaliumbromid und Fluorescein imprägniertes Filterpapier verwendet, dann reagiert auch N-Chlorsuccinimid in gleicher Weise durch die Zwischenschaltung[6] der Redoxreaktion $Cl^+ + Br^- \rightarrow Br^+ - Cl^-$. Chloramin T verhält sich so wie N-Chlorsuccinimid.

Unterscheidung von Chloramin T und Alkalihypochlorit

Chloramin T und Alkalihypochlorit werden als Antiseptica und Bleichmittel vielfach verwendet, weshalb die Identifizierung dieser wasserlöslichen starken Oxydantien — allenfalls auch in Gemischen — erwünscht ist. Dieses Problem ist schwierig, weil man bisher keine analytisch verwertbaren differenzierenden Redoxreaktionen der beiden Verbindungen gekannt hat. Aus diesem Grunde ist Brouwer[1], der neuerdings ein Verfahren zur Identifizierung von Chloramin T beschrieben hat, davon abgegangen, das Oxydationsvermögen dieser Verbindung unmittelbar zu verwerten. Er führt Chloramin T in p-Toluolsulfonamid über, das in Äther geringe Löslichkeit besitzt, und identifiziert das Sulfonamid nach Abdampfen der ätherischen Lösung. Dieses Makroverfahren ist sehr empfindlich, jedoch recht umständlich und nach unseren Versuchen nicht in die Arbeitsweise der Tüpfelanalyse übertragbar.

Wir fanden, daß zur Unterscheidung von Chloramin T und Alkalihypochlorit die Farbreaktion mit Thio-Michlers Keton verwendet werden kann, wenn vorher das Alkalihypochlorit zersetzt und eine neutrale Lösung bereitet wird. Beides läßt sich erreichen durch Zusatz von Wasserstoffperoxyd und Zinkchlorid. Hierbei erfolgen die Umsetzungen

$$ClO^- + H_2O_2 \rightarrow Cl^- + H_2O + O_2 \qquad (3)$$

$$2\,OH^- + Zn^{2+} \rightarrow Zn(OH)_2 \qquad (4)$$

Bei der Realisierung von (3) und (4) bleibt Chloramin T praktisch unverändert und kann ohne Abtrennung vom gebildeten Zinkhydroxyd durch

Zusatz einer alkoholischen Lösung von Thio-Michlers Keton an einer Blaufärbung nachgewiesen werden. Eine Beseitigung des überschüssigen Wasserstoffperoxyds ist nicht nötig, da dieses mit Thio-Michlers Keton nicht reagiert.

Handelt es sich darum, Alkalihypochlorit neben Chloramin T nachzuweisen, so kann davon Gebrauch gemacht werden, daß bei Raumtemperatur die Umsetzung von alkalischen Thallium(I)-lösungen mit Hypochlorit gemäß (2) nahezu sofort eintritt, während Chloramin T erst in Mengen über 2000 μg je Tropfen nach etwa 15 min zu reagieren beginnt. Bei Erwärmung reagiert auch Chloramin T mit alkalischer Thallium(I)-salzlösung hinreichend schnell, um an der Bildung von braunem TlOOH erkannt zu werden. Es besteht demnach die Möglichkeit, sowohl die beiden Oxydantien gemeinsam nachzuweisen, als auch voneinander zu unterscheiden.

Gemeinsamer Nachweis von Chloramin T und Alkalihypochlorit

Auf einer Tüpfelplatte wird ein Tropfen der Probelösung mit einem Tropfen einer 4%igen alkalischen Lösung von Thallium(I)-sulfat vereinigt und die Tüpfelplatte für 5 min in einen auf 130° C erhitzten Trockenschrank gestellt. Je nach der Menge Chloramin T bzw. Alkalihypochlorit entsteht ein brauner Niederschlag oder eine Trübung.

Erfassungsgrenze: 2,5 μg Chloramin T bzw. Alkalihypochlorit.

Nachweis von Alkalihypochlorit neben Chloramin T

Es wird wie oben beschrieben vorgegangen, jedoch nicht erwärmt. Nach 5 bis 8 min Stehen bei Zimmertemperatur wird auf die Bildung eines braunen Niederschlages oder einer Trübung geachtet.

Erfassungsgrenze: 2,5 μg Alkalihypochlorit.

Nachweis von Chloramin T neben Alkalihypochlorit

In einer Mikrceprouvette wird 1 Tropfen der Probelösung mit 1 Tropfen 10%igem Wasserstoffperoxyd vereinigt und geschüttelt; hierauf werden 2 Tropfen einer konz. Zinkchloridlösung zugesetzt und durch Schütteln vermischt. Auf Zusatz eines Tropfens einer gesättigten alkoholischen Lösung von Thio-Michlers Keton entsteht eine Blaufärbung. Bei Vorliegen geringer Mengen Chloramin T ist Anstellung einer Vergleichsprobe mit Hypochloritlösung empfehlenswert.

Erfassungsgrenze: 1 μg Chloramin T.

Die Erfassungsgrenze des Nachweises von Chloramin T ist mit frisch bereiteten wäßrigen Lösungen dieser Verbindung ermittelt worden. Wäßrige und alkalische Lösungen von Chloramin T unterliegen bei Zimmertemperatur einer langsamen Hydrolyse unter Bildung von unterchloriger Säure bzw. Alkalihypochlorit, was an dem schnelleren Eintritt der Redoxreaktion mit alkalischen Thallium(I)-sulfatlösungen leicht feststellbar ist.

Zusammenfassung

Gewisse organische Oxydantien können durch Tüpfelreaktionen auf mit Thio-Michlers Keton oder Tetrotan imprägniertem Fallerpapier

nachgewiesen werden. Es entstehen blaue Flecke. Die Erfassungsgrenzen der Nachweise liegen zwischen 0,04 und 1,2 μg.

N-Brom-(Chlor)-succinimid reagiert mit alkalischen Tl^{I}-Salzlösungen unter Bildung von braunem Tl O(OH), das einen selektiven Nachweis dieser Verbindungen ermöglicht.

Chloramin T kann in alkalischer Lösung neben Alkalihypochlorit nachgewiesen werden nach Zersetzung des Hypochlorites mit Wasserstoffperoxyd und Zinkchlorid und darananschließender Farbreaktion mit Thio-Michlers Keton.

Literatur

[1] Brouwer, T.: Chem. Weekbl. **1956**, 670; vgl. diese Z. **156**, 320 (1957). — [2] Feigl, F.: Spot Tests in Organic Analysis, 5th Ed., N. Y. 1956. Chapt. 3. — [3] Feigl, F.: Spot Tests in Organic Analysis, 5th Ed., N. Y. 1956, p. 160. — [4] Feigl, F., u. D. Goldstein: Czermaks Mineralog. Petrograph. Mitt. 1957, im Druck. — [5] Feigl, F., D. Goldstein u. A. R. Rosell: Diese Z. **158**, 421 (1957). — [6] Frehden, O., and C. H. Huang: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **26**, 41 (1939); vgl. diese Z. **127**, 149 (1944). — [7] Ganassini, D.: Boll. Chim. Farm. **43**, 153 (1904); Chem. Zbl. **1904**, I. 1172. — [8] Hearon, W. M., and R. G. Gustavson: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **9**, 352 (1937); vgl. diese Z. **115**, 443 (1938/39). — [9] Prodinger, W.: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **36/37**, 580 (1951); vgl. diese Z. **135**, 436 (1952). — [10] Tscherniac, J.: Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 4209 (1901).

Prof. Dr. F. Feigl, Ministério da Agricultura, Lab. Prod. Mineral, Av. Pasteur 404, Rio de Janeiro (Brasilien)

Aus dem Institut für Bodenkunde der Landwirtschaftlichen Hochschule Vollebekk, Norwegen

Zur Wasserdampfdestillation von Ammoniak aus Bodenextrakten

Von

Dagfin L. Lydersen und Magne Opem

(Eingegangen am 4. September 1957)

Aufgabenstellung und Grundlage

Im Rahmen einer Untersuchungsreihe über chemische Änderungen der Treibhausböden bei Sterilisation mit Wasserdampf hatten wir die Aufgabe, die Laboratoriumsmethode für die Ammoniakbestimmung durch Wasserdampfdestillation aus Kaliumchloridextrakten von Böden möglichst rasch und selektiv zu gestalten. Eine mögliche, gegebenenfalls durch Wärme bedingte Bildung flüchtiger Basen, die bei diesem Verfahren mitbestimmt würden, wird als sehr klein und damit für die vorliegende Aufgabe als belanglos angesehen.

Destillationen mit 40%iger Natronlauge, Magnesia und Pufferlösungen wechselnder p_H-Werte wurden geprüft. Als Vorlage diente eine 4%ige Borsäurelösung die mit Mischindicator von Methylrot und Bromkresolgrün versehen war. Die Wasserdampfdestillation wurde bis zu etwa einer Verdreifachung des Volumens der anfangs 5 ml betragenden Vorlage in der Semi-Mikroapparatur durchgeführt. Zur Titration der Vorlage diente eine etwa 1/140 n Schwefelsäurelösung. Die Titration wurde bis zur Farbgleichheit mit einer mit ausgekochtem destilliertem Wasser entsprechend verdünnten Vergleichslösung durchgeführt.

Bereits während der Destillationen reiner Ammoniumchloridlösungen zur Prüfung der Apparatur und Einstellung der Schwefelsäure wurde bei Destillationen mit Magnesia festgestellt, daß die Bestimmung durch Kohlensäureentwicklung am Anfang der Destillation gestört wurde. Diese Störung, die die Analysenergebnisse herabsetzte, machte sich auch bei Destillation von Bodenextrakten mit Pufferlösungen geltend. Sie konnte zunächst behoben werden, indem man die Vorlage nach der Titration zum Umschlagspunkt zwecks Entfernung der Kohlensäure kochte, auf Zimmertemperatur kühlte und erneut zum Umschlag titrierte. Die Tatsache, daß der Farbumschlag von der Temperatur abhängt, macht Kühlung erforderlich, und da die Bürette erst nach Beendung einer Titration für die nächste Titration freigemacht werden konnte, war das Verfahren zeitraubend. Es wurde deshalb versucht, die Kohlensäure durch Zusatz von Strontiumchlorid im Destillationskolben in Form von Strontiumcarbonat zu binden. Strontium wurde wegen der besonderen Schwerlöslichkeit seines Carbonats gewählt.

Um eine möglichst hohe Selektivität der Ammoniakbestimmung im Rahmen der Wasserdampfdestillation zu erzielen, sollte die Destillation bei möglichst hoher Wasserstoffionenkonzentration, aber doch so durchgeführt werden, daß sie sich innerhalb 10 min beenden ließ. Die Wahl der Destillationszeit wurde auf Grund früherer Erfahrungen bei normalen Stickstoffbestimmungen nach der Kjeldahl-Methode getroffen. Bei diesen Arbeiten wurde festgestellt, daß weder die Konstruktion des Tropfenfängers noch die Kühlung des Kondensationsrohres der verwendeten Apparatur eine nennenswerte Beschränkung dieser Zeit zuläßt. Bei zu hoher Destillationsgeschwindigkeit werden Mikrotropfen der Lauge mit Wasserdampf mitgeführt und verursachen einen nicht reproduzierbaren Blindwert der Bestimmung. Gleichzeitig entweicht ein Teil des überdestillierten Ammoniaks durch die schwach erwärmte Vorlage.

Ergebnisse

Der Verbrauch an 1/140 n Schwefelsäure nach Destillation von 5 ml 1/140 n Ammoniumchloridlösung mit Borsäurepuffer steigender p_H-Werte und mit 40% Natronlauge ist aus Tab. 1 zu entnehmen. Die p_H-

Werte der ersten Reihe sind nach Pufferung von 4%iger Borsäurelösung mit kleinen Volumina starker Natronlauge und die p_H-Werte der zweiten Reihe bei Zimmertemperatur nach beendeter Destillation im Rückstand

Tabelle 1. *ml-Verbrauch von etwa 1/140 n Schwefelsäure nach Destillation von 5/140 Milliäquivalenten Ammoniumchlorid mit Borsäurepuffer steigender p_H-Werte*

p_H vor Destillation	4,4	6,1	6,4	6,8	7,0	7,3	8,0	Lauge
p_H nach Destillation . . .	5,5	7,3	7,6	7,6	7,8	8,0	8,5	
Verbrauch	0,60	4,13	4,45	4,57	4,64	4,62	4,64	4,65
	0,24	4,40	4,43	4,57	4,64	4,68	4,64	
						4,64		

gemessen. Die bedeutende Steigerung dieser Werte ist durch die Verdünnung des Borsäurepuffers bedingt. Aus der Tabelle geht hervor, daß die Ammoniakdestillation bei Pufferlösungen mit p_H-Werten über 7 quantitativ verläuft.

In Tab. 2 ist der Einfluß von Carbonat mit und ohne Zusatz von Strontiumchlorid gezeigt. Die Destillationen sind mit Pufferlösungen vom p_H-Wert 7,3 durchgeführt. Der Gesamtverbrauch von Schwefelsäure bei einer zusätzlichen Titration nach Kochen der bereits titrierten Vorlage kann natürlich nur gleich oder größer ausfallen als der Verbrauch vor dem Kochen der gleichen Lösung. Bei den Versuchen, die unter Zusatz von 4 mÄquiv. Strontiumchlorid ausgeführt worden sind, ergab sich beim Kochen ein Mehrverbrauch von 0,01 ml 1/140 n Schwefelsäure. Dieser geringe Mehrverbrauch ist belanglos, da bereits die Streuung der Werte bei dieser Bestimmung $\pm$ 0,026 ml beträgt.

Tabelle 2. *ml-Verbrauch von etwa 1/140 n Schwefelsäure nach Destillation carbonathaltiger Lösungen von 5/140 Milliäquivalenten Ammoniumchlorid ohne und mit Zusatz von Strontiumchlorid zum Puffer. p_H-Wert des Puffers: 7,3*

m. Äquiv. $SrCl_2$	m. Äquiv. Na_2CO_3	Verbrauch ml 1/140 n Schwefelsäure	
		ungekocht	gekocht
0	1	4,26	4,61
0	10	4,31	4,58
3	1	4,58	4,62
4	1	4,60	4,61
4	1	4,65	4,66
4	1	4,62	4,63

Ein Vergleich der Ergebnisse bei der Destillation von Bodenextrakten mit Borsäurepuffer der Anfangswerte p_H 7,3 und 8,0, Magnesia und 40%iger Natronlauge wird in Tab. 3 (S. 342) gezeigt. Für sämtliche Destillationen dient derselbe Extrakt einer Bodenprobe. Da also der Säureverbrauch der einzelnen Bestimmungen die gleiche Größenordnung hat, kann die Streuung aus sämtlichen Doppelbestimmungen zu $\pm$ 0,0133 ml mit 28 Freiheitsgraden ermittelt werden. „Students t" für Abweichungen von je 2 Doppelbestimmungen sind auf Grund dieser Streuung berechnet

und in Tabelle 4 gezeigt. Grenzen des t-Wertes bei 28 Freiheitsgraden sind für 10% Wahrscheinlichkeit: 1,70, für 1% Wahrscheinlichkeit: 2,76 und für 0,1% Wahrscheinlichkeit: 3,67. Ein Vergleich des bei Borsäurepuffer p_H 8,0 gewonnenen Zahlenmaterials mit den Werten für Borsäurepuffer p_H 7,3 gibt keinen Anhaltspunkt für die Annahme einer Verschiebung der Ergebnisse in diesem p_H-Intervall. Für die Destillationen mit Magnesia oder Natronlauge ist dagegen Gleichheit mit dem Ergebnis bei Borsäurepuffer p_H 7,3 nur für die Magnesiadestillation der Probe 7 anzunehmen.

Tabelle 3. *ml-Verbrauch von etwa 1/140 n Schwefelsäure nach Destillation von Bodenextrakten mit Puffer, Magnesia und Lauge in Anwesenheit von 4 Milliäquivalenten Strontiumchlorid*

Probe	Borsäurepuffer		Magnesia	40% NaOH
	p_H 7,3	p_H 8,0		
7	1,34	1,32	1,32	1,41
7	1,32	1,32	1,31	1,41
13	1,27	1,30	1,35	1,40
13	1,28	1,27	1,32	1,39
14	1,23	1,26	1,28	1,36
14	1,24	1,24	1,28	1,36
17	1,36	1,35	1,40	1,38
17	1,34	1,30	1,38	1,39
18	1,42	1,42	1,47	1,44
18	1,40	1,42	1,46	1,46
21	1,52	1,54	1,58	1,56
21	1,50	1,52	1,60	1,58
22	1,58	1,59	1,61	1,64
22	1,56	1,58	1,63	1,63

Tabelle 4. *„Students t" für die Abweichung des mittleren Titrationsergebnisses nach Destillation bei höheren p_H-Werten vom Ergebnis nach Destillation mit Borsäurepuffer p_H 7,3*

Probe	p_H 8,0	Magnesia	40% NaOH
7	—0,75	1,12	6,77
13	0,75	4,51	9,00
14	1,13	3,38	9,39
17	—1,88	3,01	2,62
18	0,75	4,13	3,00
21	1,50	6,00	4,50
22	1,13	3,75	4,88

Da also kein Unterschied in den Ergebnissen der beiden geprüften Pufferlösungen nachzuweisen ist, haben wir für die Analysenvorschrift die Borsäurepufferlösung des Anfangwertes p_H 8,0 mit Rücksicht auf das bessere Puffervermögen gewählt.

Analysenvorschrift

Reagentien. 1%ige Kaliumchloridlösung.

Pufferlösung p_H 8,0: 200 ml 4%ige Borsäurelösung werden mit 50 ml 0,5 n Natronlauge versetzt.

Indicatoren: 0,1%ige Bromkresolgrünlösung in Alkohol. 0,2%ige Methylrotlösung in Alkohol.

Borsäurelösung für die Vorlage: Man löst 40 g Borsäure in 1 l Wasser, kocht die Lösung zur Vertreibung der Kohlensäure und versetzt nach dem Abkühlen mit 30 ml Bromkresolgrün- und 10 ml Methylrotlösung.

Etwa 1/140n-Schwefelsäure, deren genauer Titer in üblicher Weise festgestellt wird.

2 m Strontiumchloridlösung.

Durchführung der Analyse. Man schüttelt 10 g rohen Boden 1 Std mit 100 ml Extraktionslösung und filtriert dann durch trockenes Filter. 20 ml des Filtrats werden im Destillationskolben der Parnas-Wagner-Apparatur mit 10 ml Pufferlösung und 1 ml Strontiumchloridlösung versetzt. Das Ammoniak wird durch Wasserdampfdestillation in eine mit 5 ml Borsäure-Indicatorlösung versehene Vorlage übergeführt und mit Schwefelsäure titriert.

Zusammenfassung

Es wird eine rasche und selektive Wasserdampfdestillation von Ammoniak aus Bodenextrakten beschrieben. Um eine Störung der Titration durch Kohlensäure zu vermeiden, wird Strontiumchlorid zum Extrakt im Destillierkolben hinzugefügt. Die Destillation erfolgt bei p_H 8 in boratgepufferter Lösung.

Dagfin L. Lydersen, Sintef. Norges Tekniske Høgskole, Trondheim, Norwegen

---

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der Universität Graz
(Vorstand: Prof. Dr. A. Musil)

Urantrennungen mit Kakodylsäure

Von
R. Pietsch

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. September 1957)

Wie bereits früher berichtet[3], eignet sich Kakodylsäure (Dimethylarsinsäure) sehr gut zur quantitativen gravimetrischen Bestimmung von Uranylionen. Der dabei auftretende seidig glänzende fahlgelbe Niederschlag fällt sehr rein an und läßt sich sehr gut auswaschen. Er ist daher auch für Trennungen sehr geeignet.

Wenn man die fällenden Eigenschaften von Kakodylsäure gegenüber Metallen mit jenen der Arsanilsäure[2] vergleicht, so erkennt man große Unterschiede. Sie erstrecken sich nicht nur auf den Fällungsbeginn, sondern auch auf die Form und den Verlauf der Fällungskurven. Die in den Abb. 1 u. 2 (S. 344) wiedergegebenen Fällungskurven von Arsanilsäure und Dimethylarsinsäure, die mit gleichen Metall- und äquivalenten Säuremengen unter gleichen Bedingungen aufgenommen worden sind, lassen diese Unterschiede deutlich erkennen. Während bei Arsanilsäure die Fällungen fast aller Metalle bei einem bestimmten p_H-Wert plötzlich beginnen und rasch ihre maximale Stärke erreichen, ist dies bei Kakodylsäure nicht der Fall. Hier hat das Uranylion neben einigen anderen Metallionen mit ähnlichem Kurvenverlauf wie bei Arsanilsäure eine gewisse Sonderstellung.

Bei den meisten Metallen beginnt in einem ausgedehnten p_H-Gebiet eine Farbänderung oder leichte Trübung, die sich langsam verstärkt und dann zu mehr oder weniger ausgeprägten charakteristischen Fällungen führt. Die Fällungen sind unvollständig und erreichen oft nicht einmal das

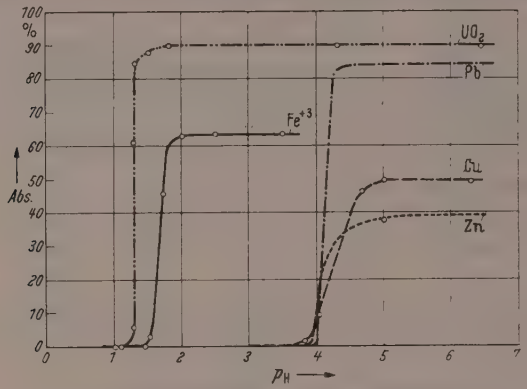


Abb. 1. Fällungskurven mit p-Arsanilsäure

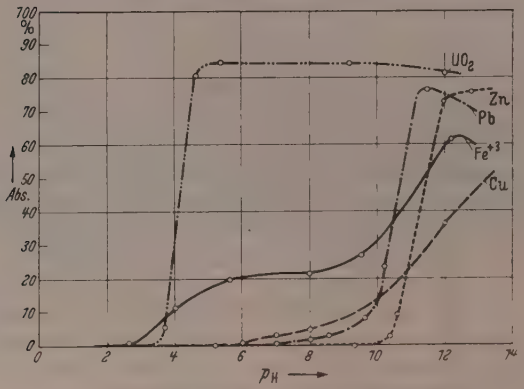


Abb. 2. Fällungskurven mit Dimethylarsinsäure

Ausmaß reiner Hydroxydfällungen. Daraus, sowie aus der Tatsache, daß bei den meisten Metallen die verzögerten Fällungen erst bei einem relativ hohen p_H-Wert eintreten, läßt sich auf eine gewisse, bereits längere Zeit bekannte[1] maskierende Eigenschaft der Kakodylsäure schließen. Nur die gut durchführbare Uranfällung verläuft glatt und ohne Störungen.

Die Unterschiede im Fällungsverlauf lassen wesentlich bessere Trennungseigenschaften von Kakodylsäure gegenüber Arsanilsäure

erwarten; deshalb ist die Abtrennung des Urans von einer Anzahl anderer Metalle mit Hilfe von Kakodylsäure untersucht worden.

Zu den Versuchen wurden die früher[3] beschriebenen Lösungen, Chemikalien und Reagentien verwendet. Auch die Fällungsmethode für Uran war im allgemeinen die gleiche wie früher. Einzelne Abweichungen sind unten angegeben.

Wie bereits bei den Einzelfällungen dargelegt worden ist[3], ergeben sich bei der Filtration des Uranylkakodylats auf Papierfilter oft Überwerte, wenn große Reagentienmengen, also große Konzentrationen nicht verglühbarer Substanz in der Fällungslösung vorhanden sind; sie lassen sich aus dem Filterpapier schwer auswaschen. Die Fehler werden durch Filtration des Niederschlages auf einen Glasfiltertiegel G 4 vermieden. Bei den Trennungen können sowohl die begleitenden Fremdmetalle als auch die mitunter notwendigen großen Reagensüberschüsse Ursache von Überwerten sein. Bei den Fremdmetallen handelt es sich um Mitfällungserscheinungen, die über einem gewissen Grenzverhältnis Uran-Fremdmetall zu untragbaren Fehlern führen. Wir haben die Trennungen sowohl durch Filtration auf Papier mit nachfolgendem Verglühen durchgeführt als auch durch Filtration auf Glasfilter mit Trocknen. Im allgemeinen sind die mit einer einzigen Fällung erreichbaren Trennungsgrenzen bei Verwendung von Glasfrittenfiltern wesentlich höher als mit Papierfilter. Eine weitere Verschiebung des Grenzverhältnisses könnte durch doppelte Fällung erreicht werden. Nachstehend folgen die Einzelergebnisse der Trennungsversuche.

Ammonium. Ammoniumionen stören infolge ihrer Verglühbarkeit in keiner Weise.

Natrium. Bei Anwesenheit großer Natriumsalzmengen treten bei Filtration mit Papierfilter Überwerte auf. Diese bereits bei der Einzelfällung[3] erwähnten Fehler lassen sich durch vermehrtes Auswaschen, vergrößertes Fällungsvolumen und durch Filtration auf Glasfrittenfilter vermeiden. In 400 ml Fällungsvolumen können ohne Fehler bei der Papierfiltration noch 4—5 g Natriumsalz vorhanden sein, bei Glasfrittenfilter mehr als 10 g.

Kalium. Bei Anwesenheit von Kalium in der Lösung liegen die Verhältnisse ähnlich wie bei Natrium, jedoch können die bei großen Salzkonzentrationen bei der Papierfiltration auftretenden Überwerte nur durch vermehrtes Auswaschen beseitigt werden, während eine Vergrößerung des Fällungsvolumens ohne Erfolg ist. In 400 ml Fällungsvolumen sind ebenso wie bei Natrium bei Anwendung von Papierfilter 4—5 g Kaliumsalz, bei Glasfrittenfiltration mehr als 10 g Salz zulässig.

Magnesium. Magnesium kann auch bei Verwendung von Papierfilter ohne besondere Maßnahmen bei der Fällung aus 400 ml Volumen in etwa vierfacher Menge gegenüber Uran vorhanden sein, bei Verwendung von Glasfiltertiegeln in mehr als der fünfzehnfachen Menge.

Calcium. Bei Verwendung von Papierfilter kann in 400 ml Fällungsvolumen, ohne Störungen zu verursachen, die zweieinhalbfache Menge Calcium vorhanden sein, bei Glasfilter hingegen die fünffache Menge des Urans.

Zink. Zink darf neben Uran bei Papierfilterfiltration in 400 ml Volumen nur höchstens in gleicher, bei Glasfrittenfilter in doppelter Menge vorhanden sein.

Blei. Die Abtrennung des Urans von Blei ist bei Arsanilsäure nicht möglich. Mit Hilfe von Kakodylsäure gelingt sie dagegen ohne Schwierigkeiten. Bei p_H 4 und einem Volumen von 400 ml dürfen bei Filtration auf Papierfilter noch gleiche Mengen Blei vorhanden sein, bei Verwendung von Glasfiltern zur Filtration kann sogar achtmal so viel Blei als Uran zugegen sein. Dem Auswaschen ist in diesem Falle jedoch auch bei Glasfiltern besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Kupfer. Bei Verwendung von Papierfilter kann in 400 ml Volumen die Uranfällung neben der halb so großen Menge Kupfer erfolgen, bei Glasfrittenfilter neben der 3—4fachen Menge. Schwierigkeiten bereitet hier das Einstellen des p_H-Wertes infolge der starken Eigenfarbe der Lösung. Am besten erfolgt die p_H-Einstellung unter Verwendung von Mercks Universalindicatorpapier.

Kobalt, Nickel. Kobalt- und Nickellösungen lassen sich aus dem verwendeten Filterpapier sehr gut auswaschen, es wird schon bei der Filtration auf Papier ein sehr gutes Trennungsverhältnis erreicht. Deshalb sind die Versuche mit Glasfiltern unterlassen worden. Aus 400 ml Volumen kann Uran noch neben der mindestens fünffachen Menge Kobalt bzw. der neunfachen Menge Nickel bestimmt werden, wenn man auf Papierfilter filtriert. Die Lösungen haben sodann durch die große Kobalt- bzw. Nickelmenge eine starke Eigenfarbe, so daß man die p_H-Einstellung wie bei Kupfer mit Hilfe von Indicatorpapier vornimmt.

Aluminium. Kakodylsäure bildet mit Aluminium einen löslichen Komplex und verbraucht deshalb Reagens. Um das Aluminium sicher in Lösung zu halten, ist ein großer Reagensüberschuß notwendig. Für 10 mg anwesendes Aluminium verwendet man etwa 1 ml Reagenslösung. Größere Reagensmengen sind nicht schädlich, sondern wirken sich im Gegenteil günstig aus. Die Filtration auf Papierfilter ist allerdings ausgeschlossen.

Die Tab. 1 zeigt die Ergebnisse einiger Trennungen, die aus 400 ml Volumen unter Verwendung von Glasfiltertiegeln durchgeführt wurden:

Aus der Tabelle kann man entnehmen, daß unter den angegebenen Bedingungen Uran noch neben der 10fachen Aluminiummenge einwandfrei bestimmbar ist.

Chrom. Bei Chrom liegen insofern ähnliche Verhältnisse vor wie bei Aluminium, als auch hier ein (hier dunkelgrün gefärbter) Komplex mit Kakodylat gebildet wird, der Reagens verbraucht und folglich auch hier das Arbeiten mit einem großen Reagensüberschuß notwendig macht.

Zum Unterschied von Aluminium wird das Uran hier schwer quantitativ gefällt. Es gelingt selbst mit großem Reagensüberschuß und bei höherem p_H-Wert nur in Anwesenheit einer relativ geringer Chrommenge, das Uran quantitativ zu bestimmen. Chrom darf nämlich neben Uran höchstens in der gleichen Menge vorhanden sein, die Reagensmenge muß auf das über zehnfache des üblichen Betrages erhöht werden und es muß ein p_H-Wert von etwa 6—7 eingehalten werden. Bei mehr Chrom ergeben sich stets Unterwerte an Uran. Überwerte konnten in keinem Falle beobachtet werden. Zur Filtration sind nur Glasfiltertiegel verwendbar.

Tabelle 1

U gegeben mg	Al mg	Reag. ml	p_H	U gef. mg
81,8	43,7	4	4,86	82,0
40,9	43,7	4	4,60	40,4
40,9	87,4	16	4,40	40,8
40,9	174,8	25	4,40	40,8
40,9	264,9	25	4,40	41,0
40,9	353,3	25	4,50	40,9

Eisen. Da auch Eisen durch Kakodylsäure maskiert wird, muß bei Vorhandensein von Eisen neben Uran ein Reagensüberschuß verwendet

Tabelle 2

Metall	Vielfaches an Begleitmetall, neben dem Uran noch ohne merklichen Fehler bestimmt werden kann, bei Verwendung von: Papierfilter	Glasfrittenfilter	Metall	Vielfaches an Begleitmetall, neben dem Uran noch ohne merklichen Fehler bestimmt werden kann, bei Verwendung von: Papierfilter	Glasfrittenfilter
Ammonium	>50	>50	Kupfer	0,5	3,5
Natrium	50	>50	Kobalt	5	> 5
Kalium	50	>50	Nickel	9	> 9
Magnesium	4	>15	Aluminium	—	10
Calcium	2,5	> 5	Chrom	—	1
Zink	1	2	Eisen	—	> 5
Blei	1	8			

werden. Bei einem Fällungsvolumen von 400 ml kann die Uranbestimmung bei Filtration auf Glasfritten noch neben der mehr als achtfachen Menge Eisen erfolgen. Filterpapier hält hingegen besonders die Eisenverbindung hartnäckig zurück.

Tab. 2 gibt eine Übersicht über die gesamten Trennerfolge, die mit Kakodylsäure erzielt wurden.

Zusammenfassung

Das früher ausgearbeitete Verfahren zur gravimetrischen Bestimmung von Uran mit Kakodylsäure erlaubt eine Abtrennung des Urans von zahlreichen anderen Metallen, wovon in der vorliegenden Arbeit eine Auswahl angegeben wird.

Literatur

[1] Hein, F.: Chemische Koordinationslehre, S. 394. Leipzig: Hirzel 1950. — [2] Pietsch, R.: diese Z. **152**, 168 (1956). — [3] Pietsch, R.: diese Z. **159**, 37 (1957).

Dr. R. Pietsch, Graz-Gösting, Ruinenweg 8

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Universität Greifswald

Hochreinigung von Borsäure durch Ionenaustauscher, insonderheit zur Darstellung von Boratluminophoren

Von

H. Witzmann und H. K. Müller-Buschbaum

(Eingegangen am 7. September 1957)

Die Präparation anorganischer Kristall-Luminophore setzt reinste Ausgangsstoffe voraus, da schon Spuren von Verunreinigungen intensitätsmindernd oder löschend auf die Lumineszenz zu wirken vermögen. Demgemäß wird zur Herstellung von Boratluminophoren hochreine Borsäure benötigt.

Die handelsübliche Borsäure erfüllt diese Bedingung nicht; zumeist enthält sie Spuren an Eisen (Tab. 1) und Kupfer. Vorliegende Untersuchung gilt speziell der Entfernung des Eisens.

Eisen gehört im allgemeinen zu den lumineszenzlöschenden Elementen (Killer). Es läßt sich daher durch die relativ empfindliche Fluorescenzprobe nicht nachweisen. Aus Tab. 1 ist der Eisengehalt in Borsäure

Tabelle 1. *Eisengehalt verschiedener Borsäuren des Handels*

Herkunft	Analysenbefund g Fe/g Borsäure	laut Garantieschein g Fe/g Borsäure
1. Laborchemie Apolda, Borsäure p. a. . .	$1 \cdot 10^{-6}$—$2 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$
2. Schering Adlershof, Borsäure p. a. . .	$2{,}6 \cdot 10^{-6}$—$3 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$
3. Schering Adlershof, Borsäure nach Sörensen	$1{,}7 \cdot 10^{-6}$—$2 \cdot 10^{-6}$	—
4. Feinchemie Eisenach, Borsäure p. a. .	$1{,}7 \cdot 10^{-6}$—$2 \cdot 10^{-6}$	—
5. Chem. Fabrik E. Nickel, Seligenthal (Schmalkalden), Borsäure p. a.	$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	—
6. Merck, Darmstadt	—	$2 \cdot 10^{-6}$

verschiedener Herkunft ersichtlich. Selbst bei den reinsten Produkten wird die Grenzkonzentration von $1 \cdot 10^{-6}$ g Fe/g Borsäure nicht unterboten. Wohl aber können geringere Spuren an Eisen die Lumineszenz beeinträchtigen.

Es ist üblich, Borsäure durch wiederholte Umkristallisation aus mehrfach destilliertem Wasser oder durch fraktionierte Destillation und

nachfolgende Zersetzung des Methylesters[13] zu reinigen. Die Methode der Kristallisation versagt erfahrungsgemäß, wenn die Konzentration an Eisen $= 1 \cdot 10^{-6}$ g Fe/g Borsäure ist. Andererseits rechtfertigt das umständlichere Reinigungsverfahren über den Methylester die Ausarbeitung einer einfacheren und schnelleren Methode.

Die adsorptive Reinigung anorganischer Stoffe ist seit längerem als anorganische Chromatographie[4,12a–c] auch in die Präpariertechnik der Luminescenzchemie eingegangen, und wurde zur Darstellung luminescenzreiner Grundkomponenten beispielsweise von TIEDE, sowie von SCHIKORE u. Mitarb.[11] durch Behandlung wäßriger Metallsalzlösungen an γ-Al_2O_3 erprobt. Hierfür werden in neuerer Zeit auch Kunstharze, z. B. Wofatite angewandt, wobei man sich ihrer austauschenden, adsorbierenden und ionensiebenden Wirkung bedient. Ferner wurden speziell präparierte Harze wie Chelatharze[5] und Komplexonaustauscher[7] eingesetzt sowie die besonderen Eigenschaften von Komplexverbindungen[1,3,6,8,10] oder großvolumiger Ionen[2] erfolgreich ausgenutzt.

Zur Durchführung der Versuche stand eine Reihe von Wofatiten der Farbenfabrik Wolfen: Wofatit KPS, Wofatit CP, Wofatit P, Wofatit CN, Wofatit L 150 und Wofatit E zur Verfügung. Hiervon schien das Wofatit CP besonders geeignet, da es wegen seiner hellen Farbe den Fortgang der Adsorption tiefer gefärbter Metallkomplexe visuell zu verfolgen gestattet und zum anderen mit organischen Lösungsmitteln teils vorzüglich zu quellen (Methanol und Äthanol) oder auch zu schrumpfen (Aceton und Äther) vermag und damit unter Ausnutzung der Quellungsdifferenz durch Eluieren gereinigt werden kann.

Vorbehandlung der Austauscher

Da die benutzten Harze, bedingt durch die Herstellungsweise, relativ hohe Mengen an Eisen enthielten, war eine Vorbehandlung zur Entfernung des Eisens erforderlich. Die Reinigung wurde mit konzentrierter Salzsäure versucht, war jedoch wegen der Bildung fest am Harz haftender $(FeCl_4)^-$-Ionen nicht von Erfolg[8], so daß azeotrop siedende, dreifach destillierte Salzsäure eingesetzt werden mußte.

Zweckmäßig arbeitet man hierbei mit einer luftfrei gefüllten Säule. Da das Eisen nur durch einen langwierigen Diffusionsvorgang aus dem Inneren des Harzes zu entfernen ist, muß ständig frische Säure nachlaufen. Erfahrungsgemäß beträgt diese Behandlung bei einer Geschwindigkeit von 3 Tropfen/sec unter weiterer Berücksichtigung der Dimensionen der später beschriebenen Säule mindestens einen Tag.

Die letzten Spuren an Eisen werden schneller und erfolgreicher unter Ausnutzung der Quellungsdifferenz entfernt:

Das CP-Harz wird nach der Säurebehandlung gründlich mit Wasser gewaschen und hierauf vorsichtig mit Aceton geschrumpft. Bringt man nunmehr eine 0,05%ige methanolische Lösung von Kupferron mit dem Harz in Berührung, so quillt es unter Volumenzunahme von etwa 30% auf, wobei sich die Säule mit der Lösung des

Reagenses vollsaugt. Je nach der vorliegenden Eisenkonzentration färbt sich das hellgelbe Harz braun bis rotbraun. Das gebildete Fe-Kupferronat läßt sich mit organischen Lösungsmitteln (Methanol, Aceton, Äther) extrahieren und ist an der mehr oder minder braun gefärbten, durch die Säule wandernden Zone, sowie am dunkelbraunen Ablauf erkennbar. Wiederholt man den Vorgang des Quellens und Schrumpfens, so läßt sich eine gute Tiefenwirkung erzielen, die mit dem Vollsaugen und Ausdrücken eines Schwammes vergleichbar ist. Das Harz ist schließlich von hellgelber Farbe und praktisch eisenfrei.

Reinigung der Borsäure

Kupferron als Komplexbildner

Zur Entfernung des Eisens aus der wäßrigen Lösung der Borsäure wird es als Komplexverbindung wofatiert. Dabei ist zumeist nicht zu entscheiden, ob die Wirkung des Kunstharzes auf adsorptiver, austauschender oder ionensiebender Basis beruht. Bei Eisenkomplexen dürfte infolge ihrer Größe die Siebwirkung vorherrschen.

Bezüglich der Wahl des Komplexbildners ist die geringe Löslichkeit der Borsäure bei Zimmertemperatur zu beachten. Infolgedessen müssen erhebliche Mengen an Lösungsmittel eingesetzt werden. Das Eisen liegt also in relativ großer Verdünnung vor. Andererseits vermag das Harz vielfach die Beständigkeit des Komplexliganden zu beeinträchtigen. Das kann im Falle des Kupferrons beobachtet werden. Ein Ligand erscheint daher am brauchbarsten, wenn er noch in hoher Verdünnung auf Schwermetalle anspricht, möglichst stabile, großvolumige und farbige Komplexe geringer Sekundärdissoziation bildet, sowie gegenüber dem jeweils eingesetzten Kunstharz möglichst beständig ist.

Zur Anwendung des Komplexbildners kann man die Säule direkt mit seiner Lösung beladen oder den Liganden von vornherein der zu reinigenden Lösung hinzugeben. Im Falle des Kupferrons wurde der zweite Weg gewählt, da sich das Reagens von der versuchsweise beladenen Säule verhältnismäßig leicht auswaschen ließ. Die Konzentration des Kupferrons betrug 0,05%, bezogen auf die kalt gesättigte wäßrige Borsäurelösung. Der Ablauf wurde eingeengt, die Borsäure auskristallisiert und getrocknet. Als Säule diente eine 3 cm dicke und 65 cm lange Schicht aus Kunstharz, wobei die Durchflußgeschwindigkeit auch hier etwa 3 Tropfen/sec betrug.

Tab. 2 gibt den erzielten Reinheitsgrad nach einmaligem Durchlauf im Vergleich zum ursprünglichen Eisengehalt des Ausgangsmaterials wieder, wobei die eisenreichste Borsäure (Tab. 1, 5, S. 348) zugrunde gelegt wurde.

Bei größeren Ansätzen, etwa mit 6 l Ablauf, machte sich beim Einengen der gereinigten Lösung ein Zerfall des nicht verbrauchten Kupferrons störend bemerkbar. Die Lösung färbte sich gelb und wurde schließlich braun und trübe, so daß im Endeffekt Borsäure mit Einschlüssen organischer Zersetzungsprodukte auskristallisierte.

Für die Präparation von Luminophoren ist dieses Produkt nur bedingt brauchbar. Auch die nur geringe Beständigkeit des Kupferrons gegenüber Wofatit CP, sowie der zur quantitativen Fällung erforderliche

relativ große Überschuß an Reagens ergaben noch kein befriedigendes Resultat, zumal aus der Zersetzlichkeit des Kupferrons auch auf die verminderte Haltbarkeit seiner Metallkomplexe am CP Harz geschlossen werden darf. Es gelang zwar, die besonders in Gegenwart von Oxydationsmitteln (Luft, Wasserstoffperoxyd, Persulfat) auftretenden gefärbten Zerfallsprodukte am Neutralaustauscher Wofatit E[9] zu

Tabelle 2

Ursprünglicher Gehalt an Eisen in g Fe/g Borsäure	Mit Kupferron erzielter Gehalt an Eisen in g Fe/g Borsäure
$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	$2{,}9 \cdot 10^{-6}$
$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	$3{,}2 \cdot 10^{-6}$
$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	$2{,}2 \cdot 10^{-6}$

Tabelle 3

Ursprünglicher Gehalt an Eisen g Fe/g Borsäure	mit α,α′-Dipyridyl erzielter Gehalt an Eisen g Fe/g Borsäure
$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	$3{,}7 \cdot 10^{-7}$
$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	$3{,}7 \cdot 10^{-7}$
$1 \cdot 10^{-5}$—$3 \cdot 10^{-5}$	$3{,}0 \cdot 10^{-7}$

binden, oder einfacher nach Alterung oder Einengung der kupferronhaltigen Lösung kolloidal zu adsorbieren. Trotzdem verblieb in der borsäurehaltigen Lösung unzersetzter Ligand, der beim weiteren Einengen wiederum zerfiel.

α,α′-Dipyridyl als Komplexbildner

Eine praktisch eisenfreie Borsäure hingegen wurde unter einfacheren Bedingungen mit dem Komplexbildner α,α′-Dipyridyl erhalten, dessen Innerkomplex mit Fe^{II} an Wofatit CP leicht zurückgehalten wird. Man benötigt hierzu einen nur geringen Reagensüberschuß, der durch eine vorherige Eisenbestimmung in der Ausgangslösung zu ermitteln ist. Organische Stoffe im Ablauf bleiben somit praktisch ausgeschlossen. Die Reduktion zu Fe^{II} kann durch wenige Milliliter kalt gesättigter wäßriger Lösung von Hydrochinon oder L-Ascorbinsäure erfolgen, wobei man zweckmäßig auf 40—50° C erwärmt und hierauf langsam erkalten läßt. Man vermag auch diese Beimengungen zu vermeiden, wenn die Borsäurelösung in größeren Ansätzen ausreichend lange mit α,α′-Dipyridyl stehenbleibt. Hierbei verschiebt sich das Gleichgewicht $Fe^{3+} \rightleftharpoons Fe^{2+}$ vollständig nach rechts, da das gebildete Fe^{II} in Form seines Dipyridylkomplexes herausgefangen wird*. Je nach der betrachteten Schichtdicke ist die Borsäurelösung hellrosa bis rot gefärbt.

Tab. 3 gibt den Eisengehalt der mit α,α′-Dipyridyl gereinigten Borsäure nach einmaligem Durchlauf im Vergleich zum Ausgangsmaterial (Tab. 1, 5, S. 348) wieder.

Neben Kupferron und α,α′-Dipyridyl wurden weitere Versuche mit Äthylendiamintetraessigsäure, Dithizon und speziell für Kupfer mit Rubeanwasserstoff angestellt. Diese Komplexbildner verhalten sich

* Es ist beobachtet worden, daß Sonnenlicht diese Reaktion beschleunigt.

selektiver als Kupferron und α,α'-Dipyridyl. Sie sind jedoch wegen ihrer zu geringen Empfindlichkeit und Wasserlöslichkeit sowie der Kleinheit ihrer Komplexe bei Einsatz von Wofatit CP praktisch bedeutungslos.

Für den erzielten Reinheitsgrad der Borsäure ist naturgemäß die Qualität des Lösungsmittels maßgebend. Enthält das bidestillierte Wasser z. B. etwa $1 \cdot 10^{-10}$ g Fe/l, so reichert sich das Eisen beim Einengen der wofatierten Lösung an, wobei schließlich in 1 ml eine um drei Zehnerpotenzen eisenhaltigere Lösung vorliegt (etwa $1 \cdot 10^{-7}$ g Fe/ml). In entsprechender Weise erhöht sich der Eisengehalt der auskristallisierten Borsäure. Eine eisenärmere Borsäure läßt sich unter diesen Bedingungen also nicht gewinnen.

Zur Bestimmung des Eisens wurden 15—30 g Borsäure als Methylester verflüchtigt, der Rückstand wurde mit wenigen Tropfen dreifach destillierter Salzsäure aufgenommen. Hierauf neutralisierte man mit Ammoniak bis zu einem p_H-Wert von 6—7, reduzierte das Fe^{III} mit Ascorbinsäure, colorimetrierte den mit α,α'-Dipyridyl erhaltenen Komplex des Fe^{II} und entnahm den Eisengehalt schließlich einer Eichkurve.

Versuche, das benutzte Harz zu regenerieren, scheiterten an der bemerkenswerten Stabilität der Adsorptionsverbindung Wofatit CP-Fe^{II} α,α'-Dipyridyl. Die Kapazität der eingangs beschriebenen Säule ist jedoch so erheblich, daß man auf die Rückgewinnung des Harzes verzichten kann. Nach Gewinnung von etwa 10 kg hochgereinigter fester Borsäure sind ungefähr 10 cm der Säule tief rot bis schwarz gefärbt und können als verbraucht verworfen werden. Die restliche Säule steht dem weiteren Austausch zur Verfügung, wobei die Sättigungszone gleichmäßig und erst nach Erschöpfung der oberen Schichten voranschreitet. Genauere Angaben hängen naturgemäß vom Eisengehalt der eingesetzten Borsäure ab.

Literatur

[1] Blasius, E., u. M. Negwer: diese Z. **143**, 257 (1954). — [2] Blasius, E., H. Pittack u. M. Negwer: Angew. Chem. **68**, 671 (1956). — [3] Cornatz, J. P., u. H. Deuel: Experientia (Basel) **10**, 137 (1954). — [4] Ghosh, A. N.: Diss. München 1939. — [5] Gregor, H. P., M. Taifer, L. Citarel and K. J. Becker: Ind. Engng. Chem. **44**, 2834 (1952). — [6] Moore, G. E., and K. A. Kraus: J. Amer. chem. Soc. **72**, 5792 (1950). — [7] Olbrich, G.: Diss. Berlin 1955. — [8] Reents, A. C., and F. H. Kahler: Ind. Engng. Chem. **47**, 75 (1955). — [9] Richter, A.: DDR Patent 7364, Kl. 84b Gr. 1/05. — [10] Samuelson, O.: Svensk kem. Tidskr. **65**, 275 (1953). — [11] Schikore, W., u. E.-G. Müller: Z. anorg. Chem. **255**, 327 (1948). — [12a] Schwab, G.-M., u. G. Dattler: Angew. Chem. **50**, 691 (1937); **51**, 709 (1938); vgl. diese Z. **126**, 109, 110 (1943); [b] Schwab, G.-M., u. A. N. Ghosh: Angew. Chem. **52**, 666 (1939); vgl. diese Z. **126**, 111 (1943); [c] Schwab, G.-M., u. K. Jockers: Angew. Chem. **50**, 546 (1937); vgl. diese Z. **126**, 105 (1943). — [13] Webster, S. H., and L. M. Dennis: J. Amer. chem. Soc. **55**, 3233 (1933).

Prof. Dr. H. Witzmann, Greifswald, Soldtmannstr. 16

Chemical Laboratories, B. R. College, Agra University (India)

Studies in Bivalent Chromium Salts

Part III*

Standardisation of Chromous Sulphate Solution against Common Oxidising Agents

By

J. P. Tandon and R. C. Mehrotra

(Eingegangen am 9. September 1957)

The standardisation of chromous sulphate with potassium dichromate, ceric sulphate, potassium iodate, potassium bromate and potassium periodate has been investigated and the end-points determined visually. In the case of potassium dichromate and ceric sulphate, N-phenylanthranilic acid, ferroin and diphenylbenzidine were used as indicators. For the standardisation of potassium iodate, potassium bromate and potassium periodate chromous sulphate solution was added in excess and the excess of chromous solution was titrated against ferric sulphate, using potassium thiocyanate as indicator.

The potentiometric titrations of potassium dichromate against chromous sulphate had been carried out by Zintl and Zaimis[9] and Muraki[5]. Using 3—5% sulphuric acid, Zintl and Zaimis titrated it at room temperature. However, Holemann[4] found that the results were not reliable at higher acid concentrations. Someya[6] used diphenylamine as internal indicator in the above titration. The potentiometric titration of ceric sulphate with chromous sulphate had been studied by Furman[2]. Ceric sulphate is now widely used in volumetric analysis, due to the creditable work of Atanasiu[1], Willard and Young[8] and Furman and al[2,3].

Experimental

Materials. Ferrous ammonium sulphate, potassium iodate, potassium bromate and potassium periodate were of B.D.H.analar grade, Chrome alum was a C.P. sample and ceric sulphate was of B.D.H. technical quality.

Solutions used:

(i) Chromous solution. About 45—60 g of chrome alum (violet) were dissolved in a litre of water, containing 12—15 ml of conc. sulphuric acid. The solution was reduced and standardised in the manner as described in the earlier communications[7].

The following *indicators* have been used successfully:

(i) N-Phenylanthranilic acid. 1.07 g of the acid dissolved in 20 ml of 5% sodium carbonate solution and diluted to one litre.

* Part II: See Z. anal. Chem. **158**, 189 (1957).

(ii) Ferroin (0.025 M)· 1.485 g of orthophenanthroline monohydrate dissolved in 100 ml of 0.025 M ferrous sulphate (0.695 g of $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$ in 100 ml of water).

(iii) Diphenylbenzidine. 1% solution in concentrated sulphuric acid.

All solutions were prepared in air-free water.

Apparatus. The same apparatus was used as described in the earlier communications[7].

Standardisation with Potassium Dichromate und Ceric Sulphate

Method. 20 ml of standard $K_2Cr_2O_7$ or $Ce(SO_4)_2$ solution were taken in the titration vessel and sufficiently cold 10—12 N sulphuric acid (about 60 ml) added. Carbon

Table 1. *Titrations of Potassium Dichromate and Ceric Sulphate with Chromous Sulphate*

	Normality of oxidising agent used N	Volume of $CrSO_4$-solution required by 20 ml of oxidising agent ml	Normality of $CrSO_4$-solution found against oxidising agent N	Normality of $CrSO_4$-solution found against ferric solution N
		Potassium dichromate		
1	0.0978	15.0	0.1304	0.1303
2	0.0981	20.0	0.0981	0.0980
3	0.0965	15.7	0.1229	0.1229
4	0.1219	16.4	0.1487	0.1484
		Ceric sulphate		
1	0.0729	12.4	0.1176	0.1183
2	0.0787	10.7	0.1471	0.1478
3	0.0724	11.8	0.1227	0.1229

Table 2. *Titrations of Potassium Iodate, Bromate and Periodate with Chromous Sulphate*

	Normality of oxidising agent used N	Volume of $CrSO_4$-solution required by 20 ml of oxidising agent ml	Normality of $CrSO_4$-solution found against oxidisning agent N	Normality of $CrSO_4$-solution found against iron solution N
		Potassium iodate		
1	0.15001	18.64	0.1609	0.1601
2	0.15001	18.86	0.1607	0.1601
3	0.15001	18.70	0.1604	0.1601
		Potassium bromate		
1	0.09908	12.380	0.1600	0.1601
2	0.09908	12.396	0.1599	0.1601
3	0.09908	12.800	0.1547	0.1551
		Potassium periodate		
1	0.10393	16.62	0.1251	0.1253
2	0.10393	17.39	0.1190	0.1188
3	0.10393	19.80	0.1050	0.1054

dioxide was bubbled for 5 min and 2 or 3 drops of the indicator solution added. It was then titrated slowly with chromous sulphate solution (see Table 1). In the case of N-phenylanthranilic acid and diphenylbenzidine as indicators, the violet colour

is replaced by the green, whereas in the case of ferroin, the red colour reappears at the end-point. The colour changes exhibited by all the three indicators have been shown to be reversible in both the titrations.

Standardisation with Potassium Iodate, Bromate or Periodate

Method. 20 ml of KIO_3, ($KBrO_3$ or KIO_4)-solution and 60 ml of 10 N sulphuric acid were taken in the titration flask. Carbon dioxide was passed for 5 min and 20—25 ml of $CrSO_4$-solution were added rapidly (see Table 2). The excess of chromous sulphate was found by titrating against standard ferric solution using potassium thiocyanate as indicator. The bubbling of carbon dioxide was continued throughout the titration. The agreement between the values for the normality of chromous sulphate found by three independent methods show that the following quantitative reactions occur with potassium iodate, bromate and periodate.

$$IO_3^- + 6\,Cr^{++} + 6\,H^+ \rightarrow 6\,Cr^{+++} + 3\,H_2O + I^-$$
$$BrO_3^- + 6\,Cr^{++} + 6\,H^+ \rightarrow 6\,Cr^{+++} + 3\,H_2O + Br^-$$
$$IO_4^- + 8\,Cr^{++} + 8\,H^+ \rightarrow 8\,Cr^{+++} + 4\,H_2O + I^-$$

Summary

It has been shown that chromous solution can be standardised with the help of potassium dichromate, sulphatocerate, potassium iodate, bromate and periodate solutions. N-phenylanthranilic acid, ferroin and diphenylbenzidine serve as reversible indicators for the titrations of potassium dichromate and ceric sulphate against chromous solution.

The authors are indebted to Dr. R. N. Singh, Professor of Chemistry, B. R. College, Agra, for his kind encouragement and for providing laboratory facilities.

References

[1] Atanasiu, J. A., and V. Stefanescu: Ber. dtsch. chem. Ges. **61**, 1343 (1928); cf. Z. analyt. Chem. **83**, 203 (1931). — [2] Furman, N. H.: J. Amer. chem. Soc. **50**, 755, 1675 (1928); **54**, 4235 (1932); cf. Z. analyt. Chem. **104**, 211 (1936). — [3] Furman, N. H., and J. H. Wallace jr.: J. Amer. chem. Soc. **51**, 1449 (1929); **53**, 1283 (1931); cf. Z. analyt. Chem. **83**, 203 (1931); **93**, 367 (1933). — [4] Holemann, V. H.: Z. anorg. allg. Chem. **220**, 33 (1934). — [5] Muraki, I.: J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. **72**, 376 (1951). — [6] Someya, K.: Z. anorg. allg. Chem. **160**, 355 (1927). — [7] Tandon, J. P., and R. C. Mehrotra: Z. analyt. Chem. **158**, 20, 189 (1957). — [8] Willard, H. H., and Ph. Young: J. Amer. chem. Soc. **50**, 1322, 1334 (1928); cf. Z. analyt. Chem. **79**, 360 (1930). — [9] Zintl, V. E., and P. Zaimis: Z. angew. Chem. **40**, 1286 (1927); cf. Z. analyt. Chem. **76**, 55 (1929).

Dr. R. C. Mehrotra, Department of Chemistry, Lucknow University, Lucknow (India)

Chemical Laboratories, Andhra University, Waltair (India)

Estimation of Uranium

Part II*

A Spectrophotometric Study

By

M. Nageswara Rao and Bh. S. V. Raghava Rao

With 2 Figures in the text

(Eingegangen am 14. September 1957)

Complexes of uranium with R-salt and nitroso-R-salt had been reported by the authors[1]. Uranium-2-naphthol-1-sulphonic acid, which belongs to this series, also forms a complex whose properties are detailed below.

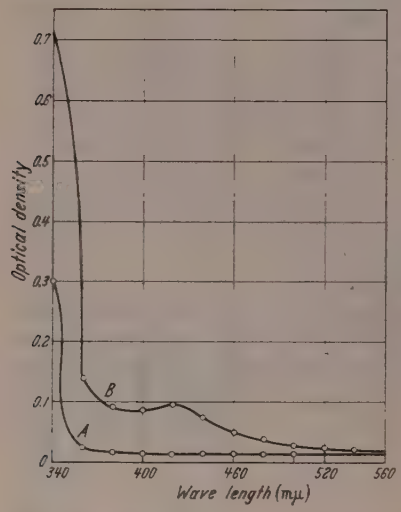


Fig. 1

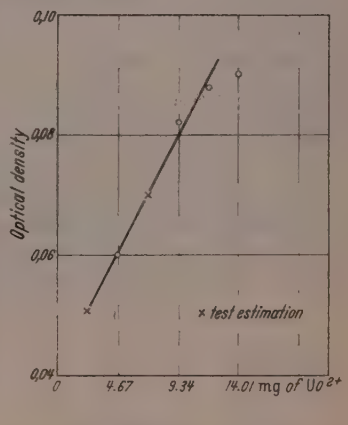


Fig. 2

Fig. 1. Absorptions of (*A*) reagent (4.02 mg 25 ml) and (*B*) complex (7.005 mg of UO_2^{2+} – 4.02 mg of reagent in 25 ml)

Fig. 2. Beers law curve (16.04 mg of the reagent with different quantities of UO_2^{2+} in 50 ml)

Fig. 1 gives absorptions of (A) a solution containing 4.02 mg of 2-naphthol-1-sulphonic acid in 25 ml and of (B) the complex formed by mixing 4.02 mg of the reagent with 7.005 mg of UO_2^{2+} in 25 ml, as measured on the Beckman Quartz Spectrophotometer Modell DU. The

* Part I cf. Z. anal. Chem. **142**, 161 (1954).

complex shows a broad peak between 400 and 440 mμ, while the reagent is practically transparent in this region. Thus, the region 400—440 mμ is well suited for colorimetric estimation. The p_H-region for the optimum formation of the complex lies between 4.0 and 4.5, as with the R-salt.

Table 1

No.	Amount of UO_2^{2+} taken mg/50 ml	Optical density	Concentration obtained from the plot ml	Amounts of UO_2^{2+} found mg	Error %
1	2.34	0.0518	5.0	2.32	<1.0
2	7.21	0.0710	15.25	7.13	>1.0

Table 2

No.	Element	Nature of interference
1	Be	does not interfere in minute quantities
2	Th	below 32 mg of Th present along with 4.7 mg of UO_2^{2+}, does not interfere; if the limit is exceeded, a white ppt. results
3	Ca	no interference
4	V	even minute quantities interfere

Table 3

	1 R-salt	2 Nitroso-R-salt	3 2-Naphthol-1-sulphonic acid
1 Limit of estimation per 50 ml (mg)	18.2	9.6	11.7
2 Max. of absorption (mμ)	400—440	465	400—440
3 Composition UO_2^{2+}:R	1:1	3:2	1:1
4 Interferences	Ca, Ba and Zn do not interfere; Zr and Fe^{III} interfere; Th and V do not interfere up to 0.24 mg of ThO_2 and 0.1 mg of V_2O_5 in 50 ml	Co, Zr and Vanadium interfere; Th does not interfere up to 0.068 mg of ThO_2 in 50 ml	Vanadium interferes in minute quantities; Be does not interfere; Th interferes above 32 mg of ThO_2 in 50 ml

The complex has the composition UO_2X (where X is the reagent ligand), as determined by Jobs method of continuous variations, from measurements at p_H 4.2 and wave-length 440 mμ, using solutions of $1.72 \cdot 10^{-3}$ M.

A BEERS law curve for the estimation of uranium has been obtained from measurements of absorption at 440 mμ, on complexes at p_H 4.2, formed from 16.04 mg of the reagent, with varying amounts of UO_2^{2+}, up to 14.01 mg in 50 ml of the total liquid. Linearity between concentration and optical density holds good up to 11.7 mg, as is evident from Fig. 2. The following test estimation (Table 1) indicates the degree of accuracy attainable.

Interference from certain related elements is shown in Table 2.

The behaviours of the complexing agents R-salt, nitroso-R-salt and 2-naphthol-1-sulphonic acid, are compared in Table 3.

References

[1] RAO, M. NAGESWARA and BH. S. V. RAGHAVA RAO: Z. anal. Chem. **142**, 161 (1954).

M. NAGESWARA RAO, Scientific Assistant, National Chemical Laboratory, Poona-8, (India)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

IV. Spezielle analytische Methoden

2. Analyse von Materialien der Industrie, des Handels und der Landwirtschaft

Atmosphärische Luft. In einer ersten Mitteilung über die *Bestimmung von Aerosolen mit Hilfe von Membranultrafiltern* berichten K. SPURNÝ und V. VONDRÁČEK[1] über grundlegende Messungen der Wirksamkeit der Filter und über den Mechanismus der Filtration beim Auffangen der festen Aerosole. Die Membranfilter können mit Methylglykol durchsichtig gemacht werden, so daß man Aerosolteilchen auf dem Filter mikroskopisch untersuchen kann. Es wird eine Methode zur gravimetrischen *Bestimmung der Aerosole in der Luft* beschrieben.

M. SHEPHERD, S. SCHUHMANN und M. V. KILDAY[2] bestimmen *kleine Kohlenmonoxydgehalte in der Luft* durch Einwirkung auf Silicagel, das nach M. SHEPHERD[3] mit Lösungen von Ammoniummolybdat, Palladiumchlorid und Schwefelsäure imprägniert ist. Die Reduktion von Molybdat durch CO zum blauen Mo_3O_8, die durch Palladium katalysiert wird, gelingt am besten bei einem bestimmten Wassergehalt des Gels[4]. — *Arbeitsweise. Herstellung des imprägnierten Gels* nach SHEPHERD[3]. Man mischt 750 ml Wasser, 450 ml Ammoniummolybdatlösung (50 g l) und 100 ml Palladiumlösung (hergestellt aus dem Metall mit einem Gehalt von 0,013 g Pd und 0,33 g H_2SO_4 je Liter) und imprägniert damit 2 Liter gereinigtes Silicagel und trocknet dann in bestimmter Weise. — *Herstellung der Standardröhrchen*[2]. Man

[1] Chem. Listy **50**, 1399—1405 (1956) [Tschechisch]; Collect. czechoslov. chem. Commun. **20**, 22 (1957). Hygienisch-epidemiolog. Stat. ÚNV, Prag.

[2] Analyt. Chemistry **27**, 380—383 (1955). Bur. Standards Washington, D.C. (USA).

[3] Analyt. Chemistry **19**, 77—81 (1947).

[4] Hersteller für das imprägnierte Silicagel sind: Mine Safety Appliances Co., Pittsburg 8, Pa.; Parmelee Plastics Co., Kansas City 6, Mo.

füllt 7 mm weite Borosilicatglasröhrchen mit dem imprägnierten Gel und leitet ein CO-Luftgemisch von bekanntem CO-Gehalt (10 ppm) mit einer Geschwindigkeit von 100 ml/min eine bestimmte Zeit (70—130 sec) nacheinander durch verschiedene Röhrchen. — *Colorimetrische Messung*[1]. Man saugt die unbekannte Luftprobe mit derselben Geschwindigkeit durch ein Röhrchen und vergleicht die Färbung mit den Standardröhrchen. Bei gleicher Färbung verhalten sich die CO-Gehalte (in ppm) umgekehrt wie die Zeiten. Die Reproduzierbarkeit beträgt etwa 5—10%. — *Messungen im Freien*[1]. Bei Messungen im Freien muß man beachten, daß die Färbung bei gleichem CO-Gehalt außer von der Einleitungszeit auch von der Temperatur etwas abhängig ist. Führt man also Feldversuche durch, kann man besonders bei extrem tiefen Temperaturen die im Labor. hergestellten Standardröhrchen nicht ohne weiteres verwenden. Im Original sind ausführliche Arbeitsvorschriften enthalten. H. Kurtenacker

C. W. Wadelin[2] beschreibt ein *Verfahren zur amperometrischen Bestimmung von Ozon und andere Oxydantien in der Luft.* Das Verfahren beruht auf der potentiometrischen Rücktitration des vorgelegten $Na_2S_2O_3$, das zur Bindung des freiwerdenden Jods dient. Die Apparatur zur Endpunktsbestimmung besteht aus einer Kalomel- und einer Platinelektrode sowie aus einem empfindlichen Galvanometer. — *Ausführung.* Man leitet etwa 125 l der zu untersuchenden Luft mit der Geschwindigkeit von 5 l/min durch ein Lösungsgemisch von 70 ml Pufferlösung (1,8 g Na_2HPO_4 – 1,7 g KH_2PO_4 im Liter), 1 g Kaliumjodid und 5 ml 0,001 n $Na_2S_2O_3$-Lösung, das sich in dem Absorptionsgefäß des von J. Crabtree und A. R. Kemp[3] beschriebenen Apparates befindet. Die Lösung wird dann mit 10 ml 2 n Schwefelsäure versetzt und unter magnetischem Rühren mit 0,001 n Kaliumjodatlösung bis zu einem bleibenden Galvanometerausschlag, der etwa 0,25 μA entspricht, titriert. Die Luftmenge muß so groß gewählt werden, daß zwischen der Nullwerttitration und Endtitration mindestens eine Differenz von 1 ml auftritt. Bei entsprechender Variation der Stärke der Normallösungen können Ozonkonzentrationen von 2—10000 pphm (Teilen in Hundert Millionen Teilen) Luft bestimmt werden. Die Standardabweichung beträgt bei Ozongehalten von 15—25 pphm 1,45 pphm. H. Zimmer

W. G. Cummings und M. W. Redfearn[4] beschreiben einen Apparat, um SO_2-Luftgemische von genau definiertem SO_2-Gehalt herzustellen, die zur Kalibrierung von automatischen Apparaten zur Registrierung von *SO_2-Gehalten in der Luft* dienen sollen. H. Kurtenacker

Zur colorimetrischen Mikrobestimmung von Toluol-2,4-diisocyanat (I) in der Atmosphäre hydrolisiert K. Marcali[5] die Verbindung zum Toluoldiamin, diazotiert, kuppelt mit N-1-Naphthyläthylendiamin und mißt die Farbintensität der entstehenden rotblauen Lösung bei 550 mμ. Mit der Methode können noch 0,01 ppm I erfaßt werden; ein tragbarer Feldapparat gestattet die Bestimmung von 0,02 ppm in 10—15 min. Aromatische Amine stören. Neben I können noch 0,03 ppm 3,3'-Diisocyanat-4,4'-dimethylcarbanilid (II), welches aus I durch Feuchtigkeit entsteht

[1] Vgl. Fußnote [2] S. 358.

[2] Analyt. Chemistry **29**, 441—442 (1957). Res. Divis., Goodyear Tire and Rubber Co., Akron 16, Ohio (USA).

[3] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 769 (1946).

[4] Chem. and Ind. **1957**, 809. Central Electricity Autorithy Res. -Labs. Leatherhead, Surrey (England).

[5] Analyt. Chemistry **29**, 552—558 (1957). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, Del. (USA).

und noch giftiger ist, ermittelt werden, und zwar durch Messung der Lichtabsorption der gelben Lösung von II bei 450 mμ in einer wäßrigen Lösung von Äthylcellosolve (= Äthylenglykolmonoäthyläther), $NaNO_2$ und Borsäure. — *Ausführung.* Man saugt die Luft durch 15 ml der Absorptionslösung (Wasser, welches 0,4 n an Essigsäure und Salzsäure ist), gibt 0,5 ml 3%ige Natriumnitritlösung hinzu, schüttelt, versetzt nach etwa 90 sec mit 1 ml einer 10%igen Lösung von Amidosulfonsäure SO_2OHNH_2 und schüttelt wieder. Nach 2 min fügt man 1 ml einer 0,1%igen, schwach salzsauren (1 ml konz. Salzsäure in 50 ml) Lösung von N-1-Naphthyläthylendiamin hinzu und verdünnt nach 5 min auf 20 ml. Mit einer ebenso behandelten Blindprobe der Absorptionsflüssigkeit stellt man am Spektrophotometer die Durchlässigkeit 100% ein und mißt dann die Probelösung in einer 1 cm- oder 5 cm-Zelle bei 550 mμ. Die Standardlösung zur Aufstellung der Eichkurve erhält man durch Auflösen von 200—255 mg I in 660 ml Eisessig und Verdünnen mit Wasser zum Liter. Nach 15 min bringt man einen aliquoten Teil dieser Lösung mit 2,2 mg I in so viel 8,8 n Essigsäure, daß die Lösung nach dem Verdünnen zum Liter 0,6 n an Essigsäure ist. — Beim Arbeiten mit dem Apparat für die Feldmethode wird die Farbe der entwickelten Probelösung mit Standardlösungen von I mit 0—1 ppm verglichen. — Zur Bestimmung von II leitet man die Luft durch 25 ml der Absorptionslösung (5 g $NaNO_2$ + 10 g Borsäure + 200 ml H_2O mit Äthylcellosolve zum Liter verdünnt) und mißt die Extinktion mit einer 2,5 cm-Zelle bei 450 mμ gegen eine Blindprobe der Absorptionslösung. Der erhaltene Wert entspricht der Summe von I und II; durch Bestimmen von I durch Diazotieren und Kuppeln kann dann der Gehalt an II berechnet werden. G. Denk

Eine quantitative Bestimmungsmethode der flüchtigen Aldehyde (Acetaldehyd, Propionaldehyd, n-Butyraldehyd) in Gasen und Dämpfen die CH_4, C_2H_6, C_3H_8, C_2H_4, C_3H_6, C_2H_2, CO_2, CO, N_2, H_2 und O_2 enthalten können, beschreibt R. Ciola[1]. Mit Hilfe der Orsat-Apparatur wird das Gasgemisch durch eine Chromtrioxyd-Schwefelsäurelösung geleitet, welche die Aldehyde selektiv absorbiert. Die Absorption ist bei 4- bis 5maligem langsamem Durchleiten durch die Lösung quantitativ. Zur Herstellung der Absorptionslösung gibt man 15 g 98%ige Schwefelsäure in 220 ml einer bei 20° C gesättigten Lösung von Natriumsulfat und fügt 46 g Chromtrioxyd hinzu. — Die Testgemische enthielten bis zu 50 Vol-% Acetaldehyd, bis zu 32 Vol-% Propionaldehyd und bis zu 6 Vol-% n-Butyraldehyd. Die Fehler waren $< \pm 0{,}1$%. Eva Neuhaus

Wasseruntersuchung. A. I. Šatenštejn und Ja. M. Varšavskij[2] haben für die *Isotopenanalyse des Wassers* nach dem Tropfenverfahren eine Tropfcapillare entwickelt, die bei Vermeidung der Unzulänglichkeiten früherer Konstruktionen Tropfen definierter Größen (3,5 μl) zu entnehmen gestattet (Abb. des Apparates im Original). In einer zweiten Mitteilung empfehlen A. I. Šatenštejn, Je. A. Jakovleva, Je. N. Gladkova, S. F. Suzdalceva und N. P. Antipova[3] das *Diphenylmethan* als neue Flüssigkeit zur Durchführung der Tropfenmethode. Diphenylmethan schmilzt bei 26,5°C, daher sind die Messungen der Fallzeiten der Tropfen bei 30°C durchzuführen. Die Flüssigkeit eignet sich zu Konzentrationsbestimmungen innerhalb 5 und 27 Atom-% des Deuteriumgehaltes. Die Meßgenauigkeit beträgt 0,1 Atom-% bei Gehalten von 6—18 Atom-% D, ~0,25 Atom-% im Bereich 18—27% D; die relativen Fehler schwanken zwischen 0,5 und 1,3%, je nachdem in

[1] Experientia (Basel) **13**, 206 (1957). Inst. Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos, São Paulo (Brasilien).

[2] Ž. anal. Chim. **11**, 746—748 (1956) [Russisch]. Physiko-chem. Inst. L. Ja. Karpov, Moskau.

[3] Ž. anal. Chim. **12**, 115—117 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.)

welchem Intervall der hyperbolischen Eichkurve gemessen wird. Die Eichkurve weist 5 Jahre lang Konstanz auf. Für den Atombereich 20—100 Atom-% D dient ein *Gemisch von Diphenylmethan mit α-Chlornaphthalin.* In diesem Falle sind 10 oder mehr Eichkurven (je nach der erwünschten Genauigkeit) anzufertigen. Im Bereich 18—27% D liegt die Genauigkeit der Messung bei diesem Gemisch höher als bei Diphenylamin allein und beträgt im Mittel 0,5%. Die Fallzeit der Tropfen soll bei diesem Gemisch 100—120 sec betragen, das entspricht einer Dichtedifferenz von 0,005 Dichteeinheiten. Beim Gehalt von 7—50 Gewichtsprozenten an α-Chlornaphthalin steigt die Dichte des Gemisches von 1,01 auf 1,09. Da das schwere Wasser sehr hygroskopisch ist, sind die Messungen möglichst rasch durchzuführen. Man entnimmt 2 ml D_2O zur Analyse; bei einer 5fachen Entnahme daraus mit der Capillare zeigen die Fallzeiten eine völlige Konstanz, desgleichen bei 3tägiger Aufbewahrung in einem Gefäß mit eingeschliffenem Stopfen. — Beide Flüssigkeiten sind beständig. Vergleichsmessungen mit dem Pyknometer zeigten völlige Übereinstimmung. Messungen mit Proben von 98—102 Atom-% (schwerer H und O) ergaben Fallzeiten von 172 bzw. 68 sec. A. v. Wilpert

Zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes von Kesselspeisewasser haben C. Janssen und G. B. Smit[1] einige der wichtigsten Methoden einer eingehenden Prüfung unterzogen und empfehlen als am besten brauchbar das jodometrische Verfahren mit Deadstop-Endpunktbestimmung von R. C. Ulmer, J. M. Reynar und J. M. Decker[2], das wiederum eine Abänderung der bekannten Winklerschen Methode ist. Die als Reagens dienende jodidhaltige Lauge wird mit etwas Jod versetzt, damit sich alle Reaktionen mit einem Jodüberschuß abspielen und etwa vorhandene reduzierende Substanzen oxydiert werden. Die Korrektur für die reduzierenden Substanzen erfolgt in einem entsprechend ausgeführten Blindversuch. Das Verfahren ist schnell durchzuführen und besitzt größte Meßgenauigkeit und Empfindlichkeit. — *Arbeitsweise.* Die Probe wird nacheinander mit 2 ml KOH/KJ/J_2-Lösung (man läßt das Reagens vor Gebrauch einige Tage stehen) und 2 ml $MnSO_4$-Lösung versetzt (die KOH/KJ/J_2-Lösung soll mit einer Spezialpipette, die innerhalb 0,001 ml geeicht ist, genau abgemessen werden). Man schwenkt um, läßt das Reaktionsgemisch 15 min stehen und gibt anschließend noch 2 ml Schwefelsäure zu. Nach Auflösen des Manganniederschlages wird die Lösung in eine Titrierzelle gebracht und mit 1 ml 0,005 n $Na_2S_2O_3$-Lösung versetzt (auch diese Reagensmenge soll sehr genau abgemessen werden). Man schaltet das Meßgerät ein. Es soll eine Spannung von 100—150 mV anzeigen. Ist dies nicht der Fall, so wird nochmals 1 ml 0,005 n $Na_2S_2O_3$-Lösung zugegeben. Anschließend wird mit 0,005 n KJO_3-Lösung bei konstanter Rührgeschwindigkeit titriert. Die Näherung des Umschlagpunktes kündigt sich meistens durch einen kleinen Spannungsanstieg von etwa 5 mV an. Sobald die Spannung zurückgeht, ist die Titration beendet. Der Blindversuch wird ebenso wie der Hauptversuch durchgeführt, doch versetzt man nach Zugabe der KOH/KJ/J_2-Lösung zuerst mit Schwefelsäure und danach erst mit der $MnSO_4$-Lösung. Für den Sauerstoffgehalt der Reagentien wird die von Adams u. Mitarb.[3] vorgeschlagene Korrektur in Anwendung gebracht. Kupfer, Hydrazin und Sulfit stören nicht. Eisen(II), Eisen(III) und Nitrit stören und müssen

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 276—284 (1957). N. V. tot Keuring van Electrotechnische Materialien, Arnhem (Niederlande).

[2] Proc. Amer. Soc. Testing Mater., Preprint, **43**, 1258 (1943).

[3] Adams, R. C., R. E. Barnett und D. E. Keller: Proc. Amer. Soc. Testing Mater., Preprint **43**, 1240 (1943); J. F. Sebald: Proc. Amer. Soc. Testing Mater., Preprint, **48**, (1947). — Power **88**, 74, 186, 360, 428, 444, 492 (1944); **91**, 298, 360, 444 (1947).

vorher aus dem Wasser entfernt werden. Dazu wird in die Probeleitung ein Filter eingeschaltet, das mit einer Mischung von H- und OH-Ionenaustauschern gefüllt ist. Die Austauscher beeinflussen die Sauerstoffbestimmung nicht. Die Genauigkeit der Methode ist mit 0,4 μg Sauerstoff l Kesselspeisewasser angegeben.

K. Machner

Zur laufenden Sauerstoffbestimmung in fließendem Abwasser verwenden R. Briggs, F. S. Davies, G. V. Dyke und G. Knowles[1] eine großflächige Quecksilbertropfelektrode, die gegen eine Zinkanode nach E. Føyn[2] geschaltet wird. Entsprechend Abb. 1 handelt es sich um eine 0,8 mm weite Capillare, die aufrecht und um 45° geneigt verwendet und aus einem Reservoir so versorgt wird, daß 6 ml Hg je Stunde mit $t = 2{,}5$ sec fließen. Die Zinkanode besteht aus einem Zinkstab, der in 0,2 n Natriumacetatlösung taucht, die mit 1 n Salzsäure auf p_H 5,5 eingestellt und durch eine Glasfritte gegen die Probelösung abgeschlossen ist. Sie besitzt ein Potential von —1,0 V gegen die gesättigte Kalomelelektrode. Die Tropfkathode wird auf um 0,5 V negativeres Potential gelegt, so daß der Diffusionsstrom der 2. Sauerstoffstufe zur Messung gelangt. An 115 Testproben wurden im Vergleich zur chemischen Analyse als Fehler ermittelt: bei 47% der Proben $\leqq$ 0,02 ppm, bei 64% $\leqq$ 0,04 ppm und bei 94% $\leqq$ 0,10 ppm. Als größter Fehler trat eine Abweichung von 0,15 ppm auf. Der Sauerstoffgehalt lag zwischen 3,2 und 7,05 ppm, die Temperatur zwischen 11,6 und 19°C.

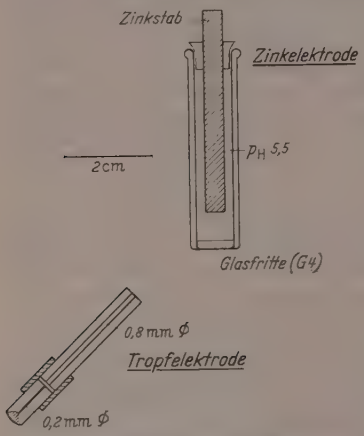


Abb. 1. Elektroden zur Sauerstoffbestimmung nach Briggs u. Mitarb.

K. Cruse

Im Anschluß an frühere Mitteilungen[3] werden vom *Joint A.B.C.M.-S.A.C. Committee*[4] ausführliche Arbeitsvorschriften zur Bestimmung von *Calcium* und *Magnesium* sowie der *Gesamthärte* in gewerblichen Abwässern veröffentlicht. Es kommen fast durchwegs bekannte maßanalytische Methoden zur Anwendung. Calcium und Magnesium werden nach Zerstören der organischen Substanz in üblicher Weise komplexometrisch titriert. (Störende Metallverunreinigungen werden durch Zusatz von Kaliumcyanid getarnt; Blei wird vorher als Sulfat abgeschieden.) Zur Bestimmung der Gesamthärte werden zwei Verfahren angegeben: 1. Man bestimmt die Gesamtkationenkonzentration der Abwasserprobe durch Ionenaustausch unter Verwendung von Zeo-Carb 225 in der H^+-Form. Im Eluat wird die den Kationen äquivalente Säuremenge mit 0,02 n Natronlauge titriert. Anschließend ermittelt man den Gehalt an Alkalimetallen nach einer der üblichen Methoden (z. B. flammenphotometrisch oder gravimetrisch als Alkalisulfat). Der Unterschied zwischen den Ergebnissen der beiden Bestimmungen entspricht der

[1] Chem. and Ind. **1957**, 223—224. Water Pollution Res. Lab., Stevenage, Herts.

[2] Fiskeridir. Skr. Havundersøk **11**, Nr. 3 (1955).

[3] Analyst **81**, 176, 492, 607, 721 (1956); vgl. diese Z. **155**, 50 (1957); **157**, 292 (1957); **158**, 51 (1957).

[4] Analyst **82**, 197—200 (1957).

Gesamthärte. 2. Man bestimmt den Verbrauch an eingestellter Na_2CO_3-NaOH-Lösung, der zur Fällung aller Kationen außer den Alkalien erforderlich ist. Dieses Verfahren ist dann angebracht, wenn höchste Genauigkeit nicht gefordert wird. — Die Durchführung aller Bestimmungen ist im Original ausführlich beschrieben.

Das *A.B.C.M.-S.A.C.-Joint Committee on Methods for the Analysis of Trade Effluents*[1] beschreibt ferner *Methoden zur Bestimmung nichtflüchtiger Substanzen*, die mit Leichtpetroleum extrahierbar sind (z. B. Öle und Fette), sowie flüchtiger Petroleumverbindungen (z. B. Benzin, Kerosin und Brennspiritus) in gewerblichen Abwässern. — *Arbeitsweise.* Zur Bestimmung der *nichtflüchtigen Kohlenwasserstoffe in gewerblichen Abwässern* wird die Probe mit 5 ml $MgSO_4$-Lösung versetzt (1 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ in 100 ml Wasser). (Schwimmt auf der Probe eine Öl- oder Fettschicht, so wird diese Schicht vorher in einem Scheidetrichter abgetrennt.) Unter ständigem Rühren (Glasstab) gibt man tropfenweise eine CaO-Aufschlämmung hinzu (2 g CaO, mit dest. Wasser angerührt, auf 100 ml verdünnt), bis Niederschlagsbildung eintritt. [Kommt es zu keiner Niederschlagsbildung, so wird an Stelle der CaO-Suspension die eine oder andere der vier nachstehend genannten Reagenslösungen verwendet: 1%ige $Al_2(SO_4)_3$-Lösung, die auf einen geeigneten p_H-Wert eingestellt wird; 1%ige Eisen(III)-chloridlösung + Ammoniak; Gemisch aus 10%iger Zinkacetatlösung und 5%iger $K_4[Fe(CN)_6]$-Lösung; Gemisch aus 10%iger Zinkacetatlösung und 5%iger Na_2CO_3-Lösung (in Vorversuchen wird das geeignete Fällungsreagens ermittelt.)] Man rührt das Reaktionsgemisch noch 2 min, läßt den Niederschlag absitzen und spült das am Glasstab haftende Fett oder Öl mit Leichtpetroleum (Siedebereich unter 40°C) in den Scheidetrichter ab. Die über dem Niederschlag stehende klare Flüssigkeit wird vorsichtig abgehebert. Man löst den Niederschlag in Salzsäure (1 : 3), spült die Lösung in den Scheidetrichter über, wäscht die Probeflasche mit 50 ml Leichtpetroleum nach und schüttelt den Trichter 1 min nicht allzu kräftig. Die wäßrige Schicht wird in einen zweiten Scheidetrichter abgelassen, noch einmal mit 50 ml Leichtpetroleum extrahiert und anschließend verworfen. Die vereinigten Extrakte werden mit 2 g wasserfreiem Natriumsulfat mit Unterbrechungen etwa 30 min geschüttelt, danach filtriert (Whatman Nr. 30). Das Filter wird 2 mal mit je 20 ml Leichtpetroleum gewaschen. Anschließend wird das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand gewogen. Die nichtflüchtigen, mit Leichtpetroleum extrahierbaren Kohlenwasserstoffe werden in mg/l Abwasser angegeben. — *Die Bestimmung von flüchtigen Ölen in gewerblichen Abwässern* geschieht im wesentlichen nach dem von J. G. Sherratt[2] beschriebenen Verfahren. K. Machner

Die spektrophotometrische Bestimmung von Alkylbenzolsulfonatreinigungsmitteln in Oberflächenwasser und Abwasser, die J. D. Fairing und F. R. Short[3] beschreiben, beruht auf der Extraktion des Alkylbenzolsulfonats (vorwiegend Dodecylbenzolsulfonat) in Form seines 1-Methylheptylaminsalzes einmal durch Chloroform bei p_H 7,5 und nach dessen Abdampfen durch Hexan bei p_H 4,8. Diese doppelte Extraktion ist erforderlich, um eine vollständige Abtrennung von allen störenden Begleitstoffen zu erzielen. Die isolierte Substanz wird dann nach Abdampfen des Hexans nach einer veränderten Methylenblaumethode unter Verwendung von mit einem wasserabstoßenden Mittel (Desicote [Methylchlorsilanlösung], Beckman Instruments, Inc.) überzogenen Glasgeräten (um Adsorption des Alkylbenzolsulfonat-methylenblau-Komplexes an der Glasoberfläche zu vermeiden) und 0,05%iger Schwefelsäure zum

[1] Analyst **82**, 123—126 (1957).

[2] Analyst **81**, 518 (1956); vgl. diese Z. **157**, 294 (1957).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 1827—1834 (1956). Monsanto Chem. Co., Dayton 7, Ohio (USA).

Waschen des Chloroformextraktes des Komplexes spektrophotometrisch mit Hilfe einer Eichkurve bestimmt. Die Färbung ist bei normalem Licht 2 Std und im Dunkeln mindestens 100 Std haltbar. Die Blindprobe soll höchstens 8 μg Substanz entsprechen. Die für eine Analyse günstigste Menge beträgt 100 μg Alkylbenzolsulfonat. Für 40—110 μg davon beträgt die Genauigkeit $\pm$ 0,3 μg, d. h. bei Abwasser $\pm$ 22 ppb (Teile je Milliarde) und bei Oberflächenwasser $\pm$ 0,4 ppb. Die Durchführung der Methode erfordert einige Übung. — *Arbeitsweise. Chloroformextraktion*: Man versetzt die 50—100 μg Alkylbenzolsulfonat enthaltende Wasserprobe, d. h. höchstens 150 ml Abwasser oder bis zu 10 l oder mehr Oberflächenwasser, das man nach Zusatz von Natronlauge (p_H 9) auf ein kleines Volumen (50—200 ml) eingedampft und später wieder neutralisiert hat, mit 5 ml + weiterem je 1 ml/100 ml Lösung Puffergemisch von p_H 7,5 (27,2 g KH_2PO_4 im Liter, mit 25%iger Natronlauge auf p_H 7,5 eingestellt), 25 ml frisch bereiteter 0,1—0,15 vol-%iger Lösung von 1-Methylheptylamin in reinem Chloroform + 25 ml Chloroform, falls die wäßrige Schicht mehr als 250 ml beträgt. Man schüttelt 2 min und filtriert die Chloroformschicht durch ein mit Chloroform befeuchtetes Baumwollfilter, spült 2mal mit 15—20 ml-Anteilen Chloroform nach und wiederholt die Extraktion der wäßrigen Phase noch 3mal. Dann versetzt man die vereinigten Chloroformextrakte mit 35 ml Wasser, 3 Tr. Pufferlösung von p_H 7,5 und Glasperlen und verkocht den größten Teil des Chloroforms bei angeschlossenem kurzem Luftkühler. Nach Spülen des Kühlers mit 10—15 ml Wasser und Zugabe von 5 Tr. 25%iger Natronlauge kocht man auf 15—20 ml ein, versetzt zwecks Hydrolyse mit 5 ml Salzsäure und erhitzt 1 Std am Rückflußkühler. Nach dem Abkühlen spült man den Kühler mit 15 ml 1%iger Natronlauge aus. — *Hexanextraktion*. Man versetzt tropfenweise mit 25%iger Natronlauge bis zum Umschlag mit Phenolphthalein, kühlt, säuert mit 10%iger Schwefelsäure an und macht mit 1%iger Natronlauge gerade eben alkalisch. Dann verdünnt man in einem Schütteltrichter auf 60—75 ml mit Wasser, stellt mit 1%iger Schwefelsäure auf p_H 4—6 ein, versetzt mit 2 ml Pufferlösung p_H 4,8 (105 g krist. Citronensäure + 15 g NaOH im Liter, mit 25%iger Natronlauge auf p_H 4,8 eingestellt) und extrahiert 2 min mit 25 ml einer 0,1—0,15 vol-%igen Lösung von 1-Methylheptylamin in n-Hexan. Nach Abtrennung des Hexans und 2maligem Nachwaschen mit 10 –15 ml Hexan extrahiert man die wäßrige Phase nochmals mit 25 ml Hexan. Diese Extraktion wiederholt man noch 2mal mit je 25 ml Amin-Hexanlösung für die erste und 25 ml Hexan für die zweite Extraktion. Dann schüttelt man die Extrakte einmal in jedem Schütteltrichter mit 15 ml ammoniakalischer Methanollösung (1% konz. NH_3 in Methanol), um die Wände zu benetzen und spült den Trichter jeweils mit 10 ml der Methanollösung und 15 ml Wasser aus. Man verkocht anschließend das Hexan auf einem Dampfbad und dampft bis auf 20—30 ml ein, nach Zugabe von 20 –30 ml Wasser nochmals auf 25—40 ml. *Methylenblaubestimmung*. Nach dem Abkühlen versetzt man in einem Schütteltrichter mit 2 ml 10%iger Schwefelsäure, füllt auf 85 ml mit Wasser auf, schwenkt mit 1 ml Methylenblaulösung (0,25 g Methylenblau in 100 ml Wasser, nach 30 min Erhitzen auf dem Dampfbad auf 250 ml mit Wasser auffüllen und in eine braune Flasche filtrieren) und extrahiert 1 min mit 15 ml Chloroform. Nach 1 min Stehen schwenkt man um, läßt weitere 2 min stehen, entfernt die Chloroformschicht, wäscht mit 5 ml Chloroform nach und wiederholt die Extraktion noch 2 weitere Male. Dann versetzt man mit 55 ml 0,05%iger Schwefelsäure, schüttelt 1 min, läßt 1 min stehen, schwenkt um und läßt weitere 2 min stehen. Dann filtriert man durch mit Chloroform befeuchtete Baumwolle in eine 100 ml-Flasche, ebenso das Waschchloroform der wäßrigen Schicht (5 ml) und das zum Ausspülen der Gefäße und zum Waschen des Filters benutzte Chloroform. Man füllt schließlich auf 100 ml mit Chloroform auf und mißt nach 5 –20 min die Absorption der Lösung bei 650 mμ

gegen Chloroform. Im Dunkeln ist die Färbung in geschlossenen Gefäßen mindestens 2 Std haltbar. Nach Berücksichtigung eines Blindwertes wertet man mit Hilfe einer Eichkurve für 0—300 μg Substanz aus. HILDEGARD PLUSKAL

Eine Methode zur volumetrischen Bestimmung von Sulfaten in Böden und Wässern wird von A. G. ASHGAR, M. A. QAYYUM und G. M. RANA[1] beschrieben. Man fällt das Sulfat mit $BaCl_2$ und titriert das überschüssige Barium einschließlich der „Gesamthärte" (Ca + Mg) komplexometrisch zurück. In einer Parallelprobe wird die Gesamthärte durch direkte Titration mit ÄDTA-Lösung festgestellt. Die Differenz ergibt den Sulfatgehalt. — *Arbeitsweise.* Zur Bestimmung der Gesamthärte titriert man 10 ml Bodenextrakt oder 10 ml des zu untersuchenden Wassers wie üblich mit 0,02 m ÄDTA-Lösung unter Verwendung von Eriochromschwarz T als Indicator. Einen weiteren 10 ml-Anteil der Probe versetzt man zur Sulfatbestimmung mit 5 ml 0,025 m $BaCl_2$-Lösung, 20 Tropfen Pufferlösung (67,5 g NH_4Cl + 570 ml konz. NH_3/l) und Indicator, der einige Tropfen 0,01 n KCN-Lösung enthält, und titriert mit 0,02 m ÄDTA-Lösung bis zum Umschlag nach Blau. Von diesem Verbrauch subtrahiert man den bei der 1. Titration erhaltenen Wert. Der Sulfatgehalt wird aus einer Kurve abgelesen, auf der der ÄDTA-Verbrauch gegen den Sulfatgehalt aufgetragen ist. Zur Herstellung der Kurve verwendet man bekannte Lösungen mit 0,5—10 mÄquiv. Sulfat/l. HILDEGARD PLUSKAL

Eine schnelle colorimetrische Bestimmungsmethode von Bodenmagnesium mit „Brillantgelb[2]" unter Ausschaltung des „Kalkfehlers" mit einem einzigen Reagens erreichen S. N. EDSON und R. H. MILLS[3], indem sie neun Teile Kalkwasser mit einem Teil einer 0,01%igen Lösung von Brillantgelb in einer 1:1 Methanol-Wassermischung vermengen und dadurch ein Magnesiumreagens gewinnen, in welchem der Einfluß des Calciums bereits kompensiert ist. Nach einer Extraktion des Bodens mit Natriumacetatlösung nach J. B. HESTER[4] (Extraktionslösung: 5 g Natriumhydroxyd in 500 ml Wasser und 11 ml Eisessig auf 1 Liter mit Wasser aufgefüllt) werden 1,5 ml des Bodenextraktes mit dem Magnesiumreagens auf 5 ml aufgefüllt und die Gelbfärbung nach 4 min bei 560 mμ gemessen. Die Eichkurve ist im Bereich von 2—30 ppm Mg eine Gerade. W. GRÜTZ

Das Humusbestimmungsverfahren von I. V. TJURIN[5] wird von V. N. SIMAKOV[6] dadurch verbessert, daß der Redoxindicator Diphenylamin durch *Phenylanthranilsäure* ersetzt wird. Man spart hierbei an dest. Wasser und ein Zusatz von Phosphorsäure zwecks Komplexbildung mit Fe^{3+}-Ionen ist nicht erforderlich. Der Farbübergang von Violett nach Smaragdgrün bei der Titration mit Mohrschem Salz erfolgt scharf. — *Ausführung.* 0,1—0,5 g Boden werden nach TJURIN mit 10 ml 0,4 n Chromsäuregemisch (CrO_3 oder $K_2Cr_2O_7$ + H_2SO_4) unter Zusatz einer Messerspitze Ag_2SO_4 durch behutsames Sieden (5 min) naß verbrannt. Das Verbrennungskölbchen wird mit einem kleinen Trichter oder kleinem Rückflußkühler versehen. Man spült das Trichterchen mit einigen Tropfen Wasser in den Kolben ab, setzt 3—5 Tropfen 0,2%ige Phenylanthranilsäurelösung (0,2 g Phenylanthranilsäure

[1] Soil Sci. **83**, 239—241 (1957). Land Reclamation Directorate, West Pakistan.
[2] TARAS, M.: Analyt. Chemistry **20**, 1157 (1948).
[3] Chemist-Analyst **46**, 4—5 (1957). Black Labs., u. Univ. Gainsville Fla. (USA).
[4] Va. Truck Exp. Sta. Bulletin, No. 82 (1934).
[5] Bodenkunde **1931**, Nr. 5—6 [Russisch].
[6] Visti. Leningrad. Univ. Nr. 3, Ser. Biol., H. 1, 149—150 (1957) [Russisch]. Univ. Leningrad.

werden mit einigen ml 0,2%iger Sodalösung verrührt und mit derselben Lösung auf 100 ml aufgefüllt) hinzu und titriert mit 0,2—0,1 n Mohrscher Salzlösung bis zum Übergang Violett → Grün. A. v. WILPERT

Zur Bestimmung anorganischer Elemente in pflanzlichem Gewebe zerstören N. YAMAGATA, S. MUTO, T. YAMAGATA und S. WATANABE[1] die Pflanzensubstanz für die Bestimmung von *Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium* und *Phosphor* mit Salpetersäure und Überchlorsäure. Für die Bestimmung von *Chlor, Schwefel* und *Silicium* veraschen sie mit Natriumcarbonat. Bei der „nassen Veraschung" mit Salpetersäure-Überchlorsäure treten keine Verluste an Phosphor auf, wohl aber ergäben sich solche an Schwefel. Deshalb ist für S der Schmelzaufschluß vorzuziehen. Bei 170 Pflanzenproben wurden Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Silicium, Schwefel und Phosphor in Mengen von über 0,1% der Trockensubstanz bestimmt, dagegen werden Eisen, Aluminium, Mangan, Chlor und Zink nur in Mengen von 0,01—0,1% gefunden. Andere Elemente fanden sich in Mengen unter 0,01%. W. GRÜTZ

Für die polarographische Bestimmung von Spurenelementen in Pflanzenasche mit Nitrilotriessigsäure (NTE) hat R. PLETICHA[2] folgende Methode angegeben: Zur Bestimmung von Kupfer und Zink werden 0,5 g Asche (bei 500° C hergestellt) in 10 ml Salzsäure (1:3) gelöst und nach Zugabe einiger Tropfen 3%iger Wasserstoffperoxydlösung auf dem Sandbad eingedampft. Schließlich wird 1 Std bei 110° C gehalten. Der Rückstand wird mit 10 ml 1 n Salzsäure in der Siedehitze behandelt; man filtriert die ausgeschiedene Kieselsäure ab und füllt durch Nachwaschen mit heißer 1 n Salzsäure auf insgesamt 25 ml auf. 5 ml dieser Probelösung werden mit 5 ml 25%igem Ammoniak gemischt, in dem 0,4 g NTE gelöst sind. Man entlüftet mit Stickstoff, der in 12%igem Ammoniak gesättigt wurde, und polarographiert von 0 V beginnend. Die Auswertung der Stufen bei —0,5 V (Cu) und —1,4 V (Zn) erfolgt am besten nach der Methode der Standardzugabe. Etwa vorhandenes Eisen, dessen Stufe bei —0,3 V nur sehr schlecht auswertbar ist, kann wenigstens in relativer Menge abgeschätzt werden. — An einem Modellversuch mit der ammoniakalischen NTE-Lösung der Asche bei Zugabe bekannter Spurenmengen an Pb, Sb, Tl, Cd und Bi wird hervorgehoben, daß auch diese Metalle polarographisch erfaßbar sind, da ihre Stufen (in der angeführten Reihenfolge) bei —0,75, —0,87, —0,61, —1,00 und —0,71 V gegen die gesättigte Kalomelelektrode liegen, sich also kaum überschneiden. K. CRUSE

Über den Nachweis und die Trennung von Zuckeralkoholen (ZA) in Pflanzenpreßsäften oder -auszügen berichten M. STEINER und E. MAAS[3]. Man versetzt 1 ml Preßsaft oder Extrakt mit 20 ml Wasser, 2 ml 2%iger wäßriger Triphenyltetrazoliumchloridlösung und 2 ml 1 n Triäthylaminlösung, erwärmt 1 Std lang auf 75° C, filtriert und nimmt den im Vakuum abgedampften Trockenrückstand in 0,5 ml Wasser auf. Dann unterwirft man auf Sch. & Sch.-Papier Nr. 2043b Mgl diese Lösung einer 20stündigen aufsteigenden Chromatographierung (P-chr) mit Butanol-Äthanol-Wasser (40:11:19). Beim Besprühen der lufttrockenen P-chr mit einer Lösung von 40 mg Bromkresolpurpur und 100 mg H_3BO_3 in 100 ml 95%igem Methanol und 7,5 ml 1%iger $Na_2B_4O_7$-Lösung erscheinen die ZA als leuchtend gelbe Flecken auf blauviolettem Grund mit folgenden R_f-Werten (Streuung ± 0,02): *Tetrite 0,38, Pentite 0,31, Hexite 0,24, Heptide 0,19*. Stereoisomere ZA werden

[1] Jap. Analyst **6**, 75—77 (1957) [Japanisch] (nach engl. Zus.fass. ref.) Gunma Univ. (Japan).

[2] Pharmazie **12**, 131—135 (1957). Akad. landwirtsch. Wiss., Prag-Ruzyně.

[3] Naturwissenschaften **44**, 90—91 (1957); Univ. Bonn.

elektrophoretisch bei 270 V Spannung im „Elphor" mit Zusatzgerät getrennt. Als Elektrolytlösung dient eine Mischung gleicher Teile 0,2 m H_3BO_3- und 0,2 n NaOH-Lösung mit einem p_H-Wert von etwa 9,5. Zur Sichtbarmachung besprüht man mit einer Lösung von 1 g $AgNO_3$ in 10 ml Wasser und Aceton auf 100 ml. Nach Verdunsten des Acetons taucht man die Streifen in siedendes Wasser, behandelt sofort 30 min lang mit einer Lösung von 30 g $Na_2S_2O_3$ und 1,5 g Na_2SO_3 in 100 ml Wasser, wäscht gründlich aus und trocknet bei 30° C. Die als schwarze Streifen auf fast weißem Grunde erscheinenden ZA lassen sich an Hand von Vergleichspherogrammen identifizieren und ihre Mengen mit großer Genauigkeit abschätzen. Die Erfassungsgrenze beträgt etwa 10 μg (ausführlicher Bericht im Druck). K. Söllner

Zur Bestimmung von Phosphatidphosphorsäure in Pflanzensubstanz entwickelt W. Wenzel[1] eine indirekte Methode, indem er den Wert für Phosphatidphosphorsäure aus den Werten für benzollösliche plus säurelösliche minus anorganische Phosphorsäure berechnet. Die benzollösliche und die säurelösliche Phosphorsäure werden dabei aus dem Rückstand eines kalt gewonnenen Methanolextraktes isoliert und die anorganische Phosphorsäure aus dem Säureextrakt bestimmt. Der Analysengang ermöglicht die Aufspaltung des in Methanol gelösten Lipoproteidkomplexes durch Ausschütteln des Methanolextraktes mit Benzol und 0,1 n Salzsäure und eine Isolierung der reinen Phosphatide. — *Arbeitsweise.* 2,5 g Trockensubstanz werden 2—3 Tage bei Erneuerung des Lösungsmittels erschöpfend mit 50—70 ml Methanol extrahiert; der Extrakt wird auf 250 ml aufgefüllt. 50 ml davon dienen zur Bestimmung der Gesamtphosphorsäure. Man destilliert dazu den Methylalkohol ab und verascht den Rückstand mit 25 ml konz. Salpetersäure und 2—3 ml 70%iger Perchlorsäure. Die restlichen 200 ml des Extraktes dampft man bei maximal 40° C ein, nimmt den Rückstand mit 30 ml Benzol und 45 ml 0,1 n Salzsäure auf, schüttelt, zentrifugiert (3000 U/min) und bestimmt in der Benzolphase die Phosphorsäure. Die Säurephase wird abgetrennt, mit Wasser auf 200 ml aufgefüllt und mit Kohle entfärbt; ein aliquoter Teil wird zur Bestimmung der anorganischen Phosphorsäure benutzt. Alle Phosphorsäurebestimmungen werden nach der „Vanadat-Molybdat-Methode"[2] durchgeführt. W. Grütz

Zur Bestimmung von „Phytin"-, Eiweiß- und anorganischer Phosphorsäure in Pflanzensubstanz entfernt W. Wenzel[3] die „Phosphatidphosphorsäure" durch erschöpfende Methanolextraktion aus 2,5 g Trockensubstanzeinwaage[4]. Der Rückstand der Methanolextraktion wird mit 100 ml 2,5 n Salzsäure 2 Std geschüttelt. Man filtriert und füllt den Extrakt auf 250 ml auf. 50 ml davon werden zur Bestimmung der säurelöslichen Gesamtphosphorsäure mit 2—3 ml Perchlorsäure naß verascht. Die restlichen 200 ml werden mit Filterkohle entfärbt, wobei gleichzeitig ein Teil der Eiweißphosphorsäure adsorbiert wird. In 50 ml wird nochmals die säurelösliche Gesamtphosphorsäure bestimmt. Die anorganische Phosphorsäure bestimmt man in weiteren 50 ml. Zur Bestimmung der Eiweißphosphorsäure wird der Rückstand der Salzsäureextraktion mit etwa 5 ml Perchlorsäure verascht. Alle Phosphor-

[1] Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **75**, 143—161 (1956). Techn. Univ., Berlin-Charlottenburg.

[2] Rauterberg, E.: Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **53**, 149 (1951); Gericke, S., u. B. Kurmies: Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **59**, 235 (1952); vgl. diese Z. **136**, 452 (1952); **140**, 392 (1953).

[3] Z. Pflanzenernähr, Düng., Bodenkunde **75**, 191—203 (1956).

[4] Vgl. auch Wenzel, W.: Entwicklung einer Methode zur Bestimmung von Phosphatidphosphorsäure in Pflanzensubstanz, Z. Pflanzenernähr., Düng. und Bodenkunde (im Druck).

säurebestimmungen werden photometrisch nach der Vanadat-Molybdat-Methode durchgeführt. Die Phytinphosphorsäure findet man rechnerisch, indem man die anorganische Phosphorsäure von der Gesamtphosphorsäure nach dem Entfärben abzieht. Die Differenz der Gesamtphosphorsäure vor und nach dem Entfärben muß der aus dem Rückstand bestimmten Eiweißphosphorsäure hinzugezählt werden. Auch im Methanolextrakt befindet sich ein geringer Teil der Eiweißphosphorsäure. Die in der Pflanzensubstanz in geringer Menge vorhandenen Esterphosphorsäuren sind in den Werten für Phytinphosphorsäure enthalten, während die Nucleinphosphorsäure mit der Eiweißphosphorsäure erfaßt wird.

Die Trocknungstemperatur der Pflanzensubstanz hat einen merklichen Einfluß auf die Analysenergebnisse. Es wird deshalb eine möglichst schonende Trocknung im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure empfohlen. W. Grütz

Über die Papierchromatographie von Phosphatiden auf mit Kieselsäure imprägniertem Glasfaserfilterpapier berichten J. W. Dieckert und R. Reiser[1]. Die Apparatur und das imprägnierte Glaspapier werden nach früheren Angaben der Verff.[2] hergestellt. 10 μg Phosphatid in 0,1%iger Lösung werden am Startpunkt aufgetragen. Dann läßt man den Streifen 30 min zum Ausgleich in der betreffenden Atmosphäre hängen und chromatographiert aufsteigend. In 1 bis 1½ Std wandert die Front etwa 22,5—27,0 cm. Als Lösungsmittel kommen 15, 25, 50, 70 und 90%ige Methanollösungen in Äthyläther (v/v) in Frage. Zum Sichtbarmachen der Flecken besprüht man mit Schwefelsäure/Wasser (1:1) und erwärmt über der Heizplatte. Bei mäßiger Wärme erscheinen rötlichblaue Flecke auf weißem Hintergrund, bei stärkerem Erhitzen sind die Flecke braun. Man beobachtet im durchfallenden Licht. Die Methode ist zwar unspezifisch, aber empfindlicher als bekannte Verfahren, durch die eine funktionelle Gruppe der Phosphatide nachgewiesen wird. Bei Anwendung des 50%igen Lösungsmittels ergeben sich folgende R_f-Werte (im Gemisch bzw. einzeln): *Phosphatidyläthanolamin* (0,94, 0,94); *Distearyl-L-α-lecithin* (0,47, 0,46); *Dipalmitolyl-L-α-lecithin* (0,52, 0,50); *Sphingomyelin* (0,37, 0,40); *β-Monostearyl-L-α-lecithin* (0,21, 0,18); *β-Monopalmitolyl-L-α-lecithin* (0,21, 0,23). Mit ansteigendem Methanolgehalt des Lösungsmittels steigen im allgemeinen auch die R_f-Werte. E. Müller, Würzburg

Die komplexometrische Bestimmung von Zink und Cadmium in cyanidhaltigen Elektrolytlösungen kann nach G. N. Černucha und K. M. Gurkina[3] einfach durchgeführt werden, wenn man das Cyanid zuvor durch Zugabe von Formaldehyd in Aminonitril überführt und dadurch unschädlich macht. Der Formaldehydüberschuß geht in der ammoniakhaltigen, gepufferten Lösung in Hexamethylentetramin über. Als Indicatoren bei der Titration mit Äthylendiamintetraacetat-(ÄDTA-)Lösung verwendet man in den Verzinkungs- und Vercadmungsbädern (A) Chromogenschwarz ET-00, in den Vermessingungsbädern Chromdunkelblau K. — *Ausführung.* Man verdünnt 1 ml Elektrolytlösung (A) mit 20—30 ml Wasser, versetzt mit 5 ml Pufferlösung p_H 9—10 (54 g NH_4Cl + 350 ml konz. Ammoniaklösung im Liter), 1—2 ml 10%iger Formaldehydlösung und 0,5—0,6 g Indicator (Gemisch 1 : 400 von Chromogenschwarz ET-00 und NaCl) und titriert mit 0,08 m ÄDTA-Lösung bis zum Farbumschlag von Weinrot nach Blau. — Zur Zinkbestimmung in Vermessingungsbädern versetzt man 5 ml Probe mit 30—40 ml Wasser, 5 ml Puffer- und 10 ml

[1] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **33**, 535—537 (1956). Tex. A & M College System, College Station, Tex. (USA).

[2] Dieckert, J. W., und R. Reiser: J. Amer. Oil Chemists' Soc. **33**, 123 (1956); vgl. diese Z. **154**, 376 (1957).

[3] Zavodskaja Laborat. **22**, 656—657 (1956) [Russisch].

Formaldehydlösung, fügt 0,5 ml Indicatorlösung (0,5 g Chromdunkelblau K + 10 ml Pufferlösung, mit Äthanol auf 100 ml aufgefüllt) zu und titriert wie oben zur Blaufärbung. Der Titer der ÄDTA-Lösung wird auf Standardzinksulfatlösung eingestellt. A. KURTENACKER

Zur Bestimmung von Melamin neben Guanidin beschreiben R. M. ENGELBRECHT, H. E. MOSELEY, W. P. DONAHOO und W. R. ROLINGSON[1] 3 verschiedene Methoden. Bei Methode A wird das Melamin in Gegenwart von Guanidin bei bestimmter Temperatur als Pikrat gefällt. In Methode B wird das Guanidin vor der Fällung von Melaminpikrat entfernt, und in Methode C wird das Melamin aus dem Gemisch mit Alkali extrahiert. — *Ausführung.* A: 10 g fein gemahlenes rohes Melamin werden mit 150 ml Wasser 30 min unter Rühren zum Sieden erhitzt, filtriert und auf 250 ml aufgefüllt. 10 ml davon werden mit 15 ml Wasser und 25 ml Eisessig erhitzt, mit 150 ml gesättigter wäßriger Pikrinsäurelösung unter Rühren versetzt und zum Sieden gebracht. Wenn dann bereits Melaminpikrat ausfällt, müssen weniger als 10 ml der Probelösung verwendet werden; wenn sich kein Niederschlag bildet, wird die Lösung langsam auf 30° C abgekühlt. Das Pikrat wird durch eine Glasfritte abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser und 10 ml Äther gewaschen und bei 105° C getrocknet und gewogen. Das Volumen des Filtrats (außer Äther) wird für die Löslichkeitskorrektur benötigt. % Melamin = $(G + 0{,}00055\,x) \cdot 35{,}5/E$ (0,00055 = Löslichkeit von Melaminpikrat in 100 ml Wasser; x = Volumen des Filtrates dividiert durch 100; 35,5 = % Melamin im Melaminpikrat; E = Einwaage in dem verwendeten Lösungsanteil; G = Gewicht des Niederschlages). — B: Die Probe wird wie in A gelöst und auf 250 ml verdünnt. 10 ml davon werden mit verdünntem Ammoniak auf p_H 10,5—11,0 gebracht, worauf man langsam mit 20 ml gesättigter wäßriger Pikrinsäurelösung unter Rühren versetzt. Das Gemisch bleibt 20 min stehen und wird dann durch eine Glasfritte filtriert. Der Niederschlag kann zur Bestimmung des Guanidins dienen. Das Filtrat wird mit dem gleichen Volumen Eisessig verdünnt. Man erhitzt zum Sieden, fügt 150 ml der Pikrinsäurelösung zu und verfährt weiter wie in A. — C: 10 g der Probe werden mit 150 ml Wasser bis fast zum Sieden erhitzt. Man fügt unter Rühren soviel festes Ätznatron hinzu, daß die Lösung daran 10%ig wird, erhitzt zum Sieden und filtriert sofort. Der Rückstand wird mit heißem Wasser gewaschen. Filtrat und Waschwasser werden 3—4 Std auf 5° C gehalten und gelegentlich umgerührt. Dann wird der Niederschlag durch eine Glasfritte filtriert, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und 1 Std bei 105° C getrocknet und gewogen. % Melamin = $(G + 0{,}106\,x)\ 100/E$ (0,106 = Löslichkeit des Melamins in Gramm je 100 ml 10%iger Natronlauge bei 5° C). — Die Ergebnisse nach diesen 3 Methoden stimmen recht gut überein. EVA NEUHAUS

Analyse von technischem Natriumphosphat. H. J. WEISER jr.[2] hat die Methode von W. RIEMAN III und Mitarb.[3] der *quantitativen Trennung der verschiedenen Phosphate* mittels Anionenaustauscherchromatographie für die *Analyse von technischem Natriumtriphosphat* modifiziert. Die verwendete Apparatur ist aus der

[1] Analyt. Chemistry **29**, 579—580 (1957). Monsanto Chem. Co., El Dorado, Ark., St. Louis, Mo. und Texas City, Tex. (USA).

[2] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **34**, 124—127 (1957). Procter and Gamble Co., Cincinnati, Ohio (USA).

[3] BEUKENKAMP, J., W. RIEMAN III u. S. LINDENBAUM: Analyt. Chemistry **26**, 505 (1954); S. LINDENBAUM, T. V. PETERS und W. RIEMAN III: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 530 (1954); T. V. PETERS und W. RIEMAN III: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 131 (1956); vgl. diese Z. **146**, 366 (1955); **148**, 224 (1955/56); **153**, 209 (1956).

Abb. 1 zu ersehen. Das Capillarrohr (*c*) erleichtert die Einhaltung der Fließgeschwindigkeit, die durch Variation des Abstands zwischen dem unteren Ende der Säule und dem Flüssigkeitsspiegel im Tropftrichter genau eingestellt werden kann. — *Eluiermittel.* 1. Lösung, die 0,05 m an HCl und 0,1 m an KCl ist; 2. 0,2 m KCl-Lösung; 3. 0,4 m KCl-Lösung; 4. 0,75 m KCl-Lösung. 2—4 werden durch Zugabe von 5 ml Vorratspufferlösung (25,5 g Natriumacetat sicc. + 11,9 ml Eisessig + 500 ml H_2O) je 500 ml auf p_H 5,0 gepuffert. Jedem der Eluiermittel werden 5 mg HgJ_2 zur Verhinderung von Schimmelbildung zugesetzt. — *Vorbereitung der Chromatographiesäule.* Es wird Dowex 1-X10-Anionenaustauscherharz (100—200 mesh) der Partien 3604—37 verwendet. Das Harz wird über Nacht in destilliertem Wasser eingeweicht und dann mehrere Male abgespült und dekantiert, in die Säule geschlämmt bis zu einer Harzhöhe von 16,5 cm. Zur Vorbereitung läßt man 500 ml Eluiermittel 2) durchlaufen. Ebenso werden alle Säulen nach Gebrauch behandelt, um sie für die nächste Probe vorzubereiten. — *Arbeitsweise.* Man löst 2,500 g technisches Triphosphat in Wasser und verdünnt auf 500 ml. Der Oberteil der Säule wird vom Schliff gehoben, Flüssigkeit aus der Säule abgelassen, bis ihr Spiegel noch 1 mm über dem Harz steht. Ein 100 ml-Meßzylinder wird untergeschoben, dann ein Teil von 5 ml der Probelösung über das Harz eingefüllt. Die Flüssigkeit wird dann wieder bis auf 1 mm über dem Harz abgelassen. Dann werden nacheinander 3 mal 5 ml Elutionsmittel (1) zugegeben und die Apparatur wird zusammengefügt. Tropftrichter und Meßkolben werden mit Elutionsmittel (1) gefüllt; das Eluiermittel läuft mit 1,3—1,7 ml/min durch. Wenn 65 ml im Meßzylinder sind, wird der Rest von (1) entfernt, der Tropftrichter mit (2) gefüllt und ein 250 ml-Meßkolben mit (2) angebracht. Wenn insgesamt 90 ml gesammelt sind, wird die Vorlage gewechselt und ein 250 ml-Meßzylinder untergestellt. Der 100 ml-Meßzylinder enthält das Orthophosphat. Von (2) werden 155 ml gesammelt (Pyrophosphat), anschließend von (3) 190 ml (Triphosphat) und schließlich von (4) 100 ml in einen Meßkolben (Trimetaphosphat). — Die Phosphatfraktionen werden in üblicher Weise hydrolysiert. Die P_2O_5-Bestimmung erfolgt nach der Methode von J. B. Martin und D. M. Doty[1] in der von E. Karl-Kroupa[2] abgewandelten Ausführungsform. — Der mittlere Fehler wird je nach der vorliegenden Menge der jeweiligen Komponenten mit 0,05% (bei Vorliegen von etwa 0,2%) bis 0,62% (bei Vorliegen von etwa 90%) angegeben (Absolutfehler). — Die Analysenmethode wird mit einer früher vom Verf. angegebenen verglichen. — Die Hydrolyse von technischem $Na_5P_3O_{10}$ innerhalb von $3^1/_2$ Jahren wurde untersucht. Rund 10% des Triphosphatgehaltes waren in dieser Zeit in Pyro-(Di-)phosphat umgewandelt worden, während sich die Ortho- (Mono-) und Trimetaphosphatgehalte nicht wesentlich geändert hatten. — Die Analysenmethode kann nach Extrahieren mit Alkohol auch auf *Wasch- und Reinigungsmittel* angewandt werden.

W. Dewald

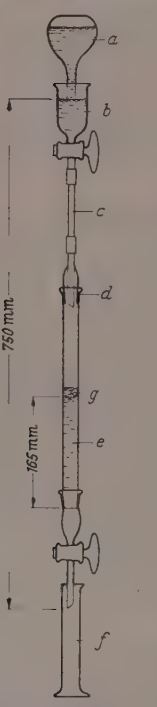


Abb. 1. Chromatographieapparat nach Weiser jr. *a* Meßkolben, *b* Tropftrichter, *c* Capillarrohr, *d* Schliff, *e* Harz, *f* Meßzylinder, *g* Glaswolle

[1] Analyt. Chemistry **21**, 965 (1949); vgl. diese Z. **134**, 148 (1951 52).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 1091 (1956); vgl. diese Z. **155**, 371 (1957).

Zur Analyse des im Handel erhältlichen Natriumsulfides führt S. Yoshida[1] folgende Einzelanalysen durch: 1. jodometrische Titration des gesamten Sulfids, Sulfits und Thiosulfats. 2. Entfernung des Sulfits durch $BaCl_2$ und jodometrische Titration des Gesamtsulfids und Thiosulfats. 3. Entfernung des Gesamtsulfids und Sulfits durch frisch bereitetes $CdCO_3$ und Formalin und jodometrische Titration des Thiosulfats. 4. Titration von Na_2S, Na_2S_2, NaOH, Na_2CO_3 usw. durch eingestellte Säure. 5. Fällung des Carbonats durch $BaCl_2$ und Titration von Na_2S, Na_2S_2 und NaOH mit Säure. 6. Überführung von Na_2S_2 in $Na_2S_2O_3$ unter Verwendung von Na_2SO_3 und Bestimmung wie unter 3. 7. Gravimetrische Bestimmung von SiO_2. 8. Bestimmung von Wasser nach der Destillationsmethode. Der Gehalt an Fe, Mg, Al und Ammoniakstickstoff usw. kann vernachlässigt werden. Hildegard Pluskal

Eine Lumineszenzmethode zur Bestimmung kleiner Fettmengen in Säuren hat S. I. Kričmar[2] ausgearbeitet. Die in Säuren emulgierten Fette werden mit Tetrachlorkohlenstoff ausgeschüttelt; die Tetralösung wird mit filtriertem UV-Licht bestrahlt, wobei Lumineszenz auftritt. Die Lumineszenz wird durch Flüssigkeitsfilter gemessen, die mit 3%iger Kaliumdichromatlösung gefüllt sind. Die Schichtdicke dieser Filter beträgt 25 mm. Die Genauigkeit der Methode hängt sehr stark vom Fettgehalt sowie von der Reinheit der verwendeten Reagentien ab. Zur Eichung dienen Lösungen mit bekanntem Fettgehalt (0—50 mg/l). Die Messungen werden an verd. Salpetersäure durchgeführt; es stören farbige Verunreinigungen technischer Säuren. W. Böhm

Die Bestimmung von Glykolsäure in gebrauchten Frostschutzmitteln (Äthylenglykol) wird von H. Green[3] auf Grund der Farbreaktion mit 2,7-Dihydroxynaphthalin in konz. Schwefelsäure[4] photometrisch durchgeführt. Das Absorptionsmaximum der rotvioletten Farbverbindung liegt bei 535 mμ. Störende Substanzen (gebrauchte Frostschutzmittel des genannten Typs enthalten unterschiedliche Mengen löslicher kolloidaler und gefällter Eisenverbindungen) werden durch Fällung mit Zinkoxyd niedergeschlagen. Die löslichen Kationen sowie das Äthylenglykol werden mit Hilfe von Ionenaustauschern aus der Probe entfernt. — *Arbeitsweise.* 10 ml der Probe werden in einem Zentrifugenglas mit genau 40,0 ml Wasser und 5—10 g festem Zinkoxyd versetzt. Man mischt gut durch und zentrifugiert 5 min bei 2000 U/min. 25,0 ml der überstehenden Flüssigkeit werden mit 1—2 g aktiviertem Kationenaustauscher (Zeo-Karb 225) gut verrührt. Man läßt die Lösung einige Minuten stehen, filtriert (Filterschleim) und wäscht gut mit kaltem Wasser. Das Filtrat wird mit 1 g trockenem, aktiviertem Anionenaustauscher (De-Acidite FF) behandelt. Man läßt einige Minuten stehen, filtriert durch einen Glasfiltertiegel und wäscht den Rückstand gut mit kaltem Wasser. Das Filtrat wird verworfen. Man entfernt Flüssigkeitsreste auf dem Tiegel mit Hilfe von Filterpapier, löst die Glykolsäure mit 2mal 5 ml 80%iger Schwefelsäure vom Harz, wobei man nach jeder Säurezugabe trockensaugt. Das Eluat wird in einer kleinen Glasstöpselflasche aufgefangen und dort mit 20,0 ml konz. Schwefelsäure gut durchgemischt. Ein aliquoter Teil (5 ml) der erhaltenen Lösung wird im Reagensglas mit 10,0 ml 2,7-Dihydroxynaphthalinlösung versetzt. (Man löst 0,01 g des Reagenses in 100 ml konz. Schwefelsäure. Die Lösung wechselt beim Stehen ihre Farbe von Gelb nach

[1] Jap. Analyst **5**, 684—689 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.). Osaka Works, Sumitomo Chemical Co., Ltd. (Japan).

[2] Zavodskaja Laborat. **23**, 328 (1957) [Russisch]. Stickstoff-Fettwerk, Dnjeprodzeržinsk.

[3] Analyst **82**, 107—110 (1957). British Cast Iron Res. Assoc., Alvechurch, Birmingham (England).

[4] Eegriwe, E., diese Z. **89**, 121 (1932).

Blau. Dieser Farbwechsel dauert etwa 24 Std und ist abzuwarten. Nach 4 Tagen wird das Reagens unbrauchbar.) Man erhitzt das Reaktionsgemisch 10 min im siedenden Wasserbad, kühlt auf Raumtemperatur ab, spült mit 50%iger Schwefelsäure in einen 25 ml-Meßkolben über, kühlt erneut ab, füllt mit 50%iger Schwefelsäure zur Marke auf und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 535 mμ unter Verwendung von 2 cm-Küvetten. Eine Blindwertbestimmung wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Im Bereich von 0,002—0,040% Glykolsäure folgt die Kurve annähernd dem Beerschen Gesetz.

K. Machner

Zur Bestimmung des als Stannat zur Stabilisierung von Wasserstoffperoxyd zugesetzten Zinns verwendet G. F. Reynolds[1] folgende *Methode.* Stets werden parallel untersucht eine 20 ml-Probe Wasserstoffperoxyd, die mit 10 ml 0,1 m Schwefelsäure versetzt und auf 50 ml aufgefüllt ist und eine zweite, der 1 ml schwefelsaure Zinnsulfatlösung — 200 μg Zinn entsprechend — und 5 ml 0,1 m Schwefelsäure zugesetzt sind, bevor auf 50 ml aufgefüllt wurde. Zwecks Trennung des Zinns werden die Lösungen dann durch eine Austauschersäule von 0,75 cm Weite und 15 cm Länge gegeben, die mit Zeo-Karb 225 gefüllt ist. Zur Herstellung dieser Säule wird der Austauscher (50—100 mesh) durch Schlämmen von feinsten Anteilen befreit in eine 25 cm-Säule gefüllt und nacheinander mit 400 ml 2 n Salzsäure, 50 ml Wasser, 400 ml 10%iger Ammoniumchloridlösung, zuletzt mit 300 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird 10 min mit 100 ml 100 Vol-%igem Wasserstoffperoxyd gekocht. Nach 3facher Wäsche durch Dekantieren wird die Analysiersäule hergestellt, noch einmal mit 25 ml 5 m Salzsäure und zuletzt mit 100 ml Wasser gewaschen. Nach Aufgabe der Probelösung wird mit 20 ml 0,02 m Schwefelsäure nachgewaschen. Das adsorbierte Zinn wird jetzt mit 15 ml 5 m Salzsäure eluiert, das Eluat wird noch 2 mal durch die Säule gegeben, dann 5 min mit Schwefeldioxyd gesättigt (Zerstörung von Wasserstoffperoxydresten) und schließlich durch Kochen und gleichzeitiges Einengen auf 10 ml vom Schwefeldioxydüberschuß befreit. Nach Zusatz von 0,25 ml 0,1%iger Proteose-peptonlösung wird auf 25 ml aufgefüllt, mit Stickstoff entlüftet und gegen die Bodenanode polarographiert. Gemessen wird die Höhe der Stufe mit $(E^1/_4) = -0{,}46$ V, die für 0,25—15 μg Sn/ml der Konzentration direkt proportional ist.

K. Cruse

Zur Zinkbestimmung in Holzimprägnierungs-Lösungen hat W. J. Wilson[2] die Titration mit Hexacyanoferrat(II)-lösung[3] verwenden können. Kupfer und Chromat, die in diesen Lösungen vorhanden sind, stören und müssen durch Fällung mit Kupferron bzw. Extraktion mit einem Gemisch von Salzsäure (1 : 1) und Methylisobutylketon entfernt werden. Als Indicator setzt man eine 0,1%ige Lösung von o-Dianisidin in verdünnter Schwefelsäure zu. Die Ausführung der Abtrennung von Kupfer und Chrom und die Zinkbestimmung sind im Original beschrieben.— Ein Anhang berichtet über die Verwendung von Methylisobutylketon zur *Extraktion von Eisen* aus wäßrigen Lösungen.

K. Brodersen

Die Bestimmung von Wasser in verschiedenen Hydrazinen führten H. F. Cordes und Ch. W. Tait[4] durch Messung der Absorptionsbande des Wassers bei 1,9 mμ

[1] Analyst **82**, 46—50 (1957). Ministry Supply, London (England).

[2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 508—510 (1956). Dom. Lab., Auckland (Neu-Seeland).

[3] Richardson, M. R., u. A. Bryson: Analyst **78**, 291 (1953); vgl. diese Z. **142**, 379 (1954).

[4] Analyt. Chemistry **29**, 485—487 (1957). U.S. Naval Ordnance Test Station, China Lake, Calif. (USA).

durch. Für *Hydrazin, Monomethylhydrazin* und *1,1-Dimethylhydrazin* ist das Beersche Gesetz für Wasserkonzentrationen zwischen 0,1 und 15% erfüllt. Eine Temperaturänderung bis zu 2°C kann vernachlässigt werden. Bis zu 5% Dimethylamin und Nitrosodimethylamin stören nicht; Methanol und Äthanol in Mengen über 1% stören, doch sind bei verminderten Ansprüchen an die Genauigkeit bis zu 10 Gew.-% der Alkohole zulässig. — *Arbeitsweise.* Man mißt die Absorption des wasserhaltigen Stoffes mit einem Beckman Modell DK-2-Spektrophotometer unter Verwendung von W-Lampe und PbS-Detektor gegen die wasserfreie Flüssigkeit und wertet mit Hilfe einer geradlinigen Eichkurve aus. Alle untersuchten Stoffe müssen wegen ihrer Sauerstoffempfindlichkeit unter N_2 aufbewahrt werden. HILDEGARD PLUSKAL

Untersuchungen zur elektrochromatophoretischen Differenzierung von Tinten haben Ch. L. BROWN und P. L. KIRK[1] nach einer bereits früher beschriebenen Methodik[2] an 17 verschiedenen schwarzen, blauschwarzen und blauen Tinten ausgeführt. Bei der Papierelektrophorese hat sich dabei als Pufferlösung am besten Essigsäure-Natriumacetatlösung bewährt (4 g Natriumacetat und 0,5 ml Eisessig je Liter). Die punktförmig aufgegebene Probe (gegebenenfalls mit Wasser aus dem Schriftzug eluiert) wird 1 Std bei 2,5 mA (350 V) elektrolysiert. Bis zu 15 verschiedene Bestandteile sind in einem Pherogramm erkennbar. Die Identifizierung der Tinten erfolgt an Vergleichsproben. Auch die Chromatographie allein kann zur Unterscheidung herangezogen werden. K. CRUSE

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Anwendung der Koflerschen Mikromethoden in der Arzneimittelanalyse. A. SEKERA und J. KRÁČMAROVÁ[3] haben in Fortführung früherer Arbeiten[4] von 61 in das tschechoslowakische Arzneibuch neu eingeführten Arzneimitteln die Schmelzpunkte und Brechungsexponenten, sowohl der reinen Substanzen als auch geeigneter eutektischer Gemische bestimmt. Die Ergebnisse sind in 4 Tabellen zusammengestellt. Z. STEJSKAL

Über ein Verfahren zur Trennung der Bestandteile von Salbenzubereitungen berichtet R. SPRINGER[5] im Anschluß an frühere Mitteilungen[6]. Durch Vorproben und mikroskopische Untersuchung stellt man zunächst fest, ob es sich bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial um eine wasserfreie Fett- oder Mineralfettsalbe, eine Emulsions- oder Suspensionssalbe, um eine Salbe auf Siliconbasis oder um anorganisches oder organisches Hydrogel handelt. Dann trennt man die Bestandteile durch Heißextraktion mit Trichloräthylen. Schließlich identifiziert man die in diesem Lösungsmittel löslichen und unlöslichen Stoffe nach einem im Original angeführten Analysenschema (*Arzneistoffe, Fettalkoholsulfonate, anorganische u. organische Hydrogele, Füllstoffe, Wachsalkohole, Kohlenwasserstoffe, Sterine, Silicone, Glycerin, Glykol und andere Weichmacher, Fettsäuren, Polyäthylenoxyd* usw.). Verf. führt zahlreiche einschlägige Literaturzitate an. K. SÖLLNER

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1729—1734. Univ. Berkeley, Calif. (USA).

[2] KARLER, A., CH. L. BROWN und P. L. KIRK: Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1585; vgl. diese Z. **157**, 442 (1957).

[3] Československ. Farmac. **6**, 255—262 (1957) [Tschechisch]. (Mit russ., dtsch. u. engl. Zus.fass.) Univ. Brno (Brünn) (ČSR).

[4] SEKERA, A., und Mitarb.: Československ. Farmac. **4**, 173, 232 (1955); Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 103. Vgl. diese Z. **158**, 138 (1957).

[5] Arch. Pharmaz. **290**, H. 3; Mitt. dtsch. pharmaz. Ges. u. pharmaz. Ges. in der DDR; **27**, 41—46 (1957). Univ. München.

[6] SPRINGER, R., und R. HERZINGER: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **287**, 204 (1954); **289**, 418 (1956); vgl. diese Z. **147**, 441 (1955); **156**, 214 (1957).

Ein chromatographisches Verfahren zur Trennung der Bestandteile von Pyrethrumextrakt beschreibt R. G. W. SPICKETT[1]. Man füllt in eine Chromatographierröhre von 2,5 cm Durchmesser und 60 cm Länge 140 g Silicagel (100 bis 200 mesh), bringt den in 5 ml 15% Äthylacetat enthaltendem n-Hexan gelösten, gereinigten Pyrethrumextrakt (0,87 g) auf die Spitze der Kolonne und eluiert mit dem gleichen Lösungsmittel unter steigendem Zusatz von Äthylacetat, wobei man Fraktionen zu je 5 ml auffängt. Von diesen wird jeweils die UV-Absorption ermittelt (Diagramm im Original). Es gelingt Verf. nach diesem Verfahren, Pyrethrumextrakt in folgende Fraktionen aufzutrennen: 1. Farblose Substanz, F 52—62° C. 2. Farbloses Öl. 3. Tief orangefarbenes Öl. 4. Gelbes Öl. 5. Gelbes, farblose Kristalle enthaltendes Öl. 6. Gelbes Öl. 7. Blaßgelbes Öl. 8. Dunkelgrünes viskoses Öl. Die Fraktionen 5. und 7. enthielten Pyrethrin I bzw. II. K. SÖLLNER

Über Gerbstoffbestimmungen in homöopathischen Zubereitungen berichtet G. KUHLMANN[2]. Es wurden zahlreiche gerbstoffhaltige Drogen und die daraus hergestellten Urtinkturen untersucht. Zu diesen Gerbstoffuntersuchungen wurden zwei Verfahren herangezogen: 1. Das gravimetrische Hautpulververfahren (die im Drogenauszug enthaltenen Gerbstoffe werden vom Hautpulver adsorbiert und festgehalten). 2. Das colorimetrische Verfahren mit Phosphorwolframsäure nach FOLIN (der Drogenauszug wird mit basischer Zinkacetatlösung versetzt und zentrifugiert, das Zentrifugat in 5%iger Schwefelsäure gelöst, die Lösung mit Phosphorwolframsäure versetzt und die durch die Reaktion mit dem Gerbstoff entstandene Blaufärbung im Stufenphotometer gemessen). Beide Verfahren ergaben gut übereinstimmende Werte. Die erzielbaren Ergebnisse werden durch Untersuchungen an Rhizoma Arnicae, Cortex Hamamelidis und daraus hergestellten Urtinkturen verglichen. — Ausführlich angelegten Tabellen der Originalarbeit können die Tanninwerte zahlreicher gerbstoffhaltiger Pflanzen entnommen werden. K. MACHNER

Alkaloide. G. N. THOMIS und A. Z. KOTIONIS[3] berichten in Zusammenhang mit früheren Arbeiten[4] über die *Eignung von Indicatorsäuren als empfindlichen Reagentien auf Alkaloide*. Das Prinzip der Nachweismethode beruht auf der Eigenschaft der Alkaloide, mit Indicatorsäuren gefärbte Additionsverbindungen zu bilden, die schwer in Wasser aber leicht in Chloroform löslich sind. Man versetzt 2 ml einer auf 0,001 m verdünnten wäßrigen Alkaloidlösung mit 0,1 ml der 0,001 m wäßrigen Indicatorlösung und mit 3 ml der entsprechenden Pufferlösung, fügt 5 ml Chloroform zu und beobachtet nach kräftigem Umschütteln die Farbtöne der wieder getrennten Phasen. Als Beispiel seien in folgender Tabelle die Farbreaktionen einer Anzahl von Pflanzenbasen mit Bromkresolgrün (BCG) und Bromphenolblau (BPB) dargestellt, mit deren Hilfe die Identifizierung der Alkaloide sicher möglich (s) oder wahrscheinlich (w) ist (siehe umseitig stehende Aufstellung). Als weitere Indicatoren eignen sich Tropäolin 00, Natrium-Alizarinsulfonat, Bromkresolpurpur, Bromthymolblau, Thymolblau und Alizarin GG, die mit den angeführten Alkaloiden ebenfalls Farbreaktionen geben. Die Empfindlichkeit dieser Reaktionen ist um mindestens eine Zehnerpotenz höher als die der bekannten Alkaloidreagentien.

---

[1] Chem. a. Ind. **1957**, 561. Colonial Products Lab., South Kensington, London.

[2] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1957**, 552—554. Iso-Werk K. G., Regensburg.

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 201—206 (1957). „Chromatourghia Athinon", Athen (Griechenland).

[4] THOMIS, G. N. und A. Z. KOTIONIS: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 11. 457, (1956); vgl. diese Z. **154**, 47 (1957); **156**, 217 (1957).

pH	Farbe der Phase: Wasser:	Chloroform:	Alkaloid:
BCG			
6	intensiv blau	farblos	Ephedrin (s)
6	intensiv blau	blaßgelb	Pilocarpin (w)
6	blaßblau	lebhaft gelb	Codein (w), Procain (w), Atropin (w)
6	blaßblau	ziegelrot	Emetin (w)
6	farblos	gelb	Strychnin (w), Spartein (w)
6	farblos	bordeaux	Chinidin (w)
6	farblos	violett	Chinin (w)
6,5	blau	gelb	Atropin (s)
6,5	himmelblau	fleischfarben	Emetin (s)
BPB			
4	lila	blaßgelb	Pilocarpin (s)
5,5	violett	farblos	Codein (s)
5,5	violett	lebhaft gelb	Procain (s)
6,5	violett	farblos	Strychnin (s)
6,5	violett	preußischblau	Spartein (s)
7,5	blaßrosa	intensiv rosa	Chinidin (s)
7,5	lebhaft violett	blaßviolett	Chinin (s)

E. G. C. Clarke[1] beschreibt in Ergänzung einer früheren Mitteilung[2] Kristall- und Farbreaktionen *für den mikrochemischen Nachweis weniger bekannter Alkaloide*. Außer den früher[2] angegebenen Reagentien werden folgende benutzt: 5%ige Ammoniumthiocyanatlösung; 5%ige Dinatriummethylarsenatlösung; Goldcyanidlösung, hergestellt durch Lösen von 5 g Goldchlorid in 100 ml Wasser und Zusatz von soviel festem Natriumcyanid, daß die entstandene Fällung wieder in Lösung geht; gesättigte Pikrolonsäurelösung; Platinbromidlösung, hergestellt durch Lösen von 5 g Platinchlorid und 10 g Natriumbromid in 100 ml Wasser; 5%ige Kaliumcyanidlösung; 5%ige Styphninsäurelösung; gesättigte Trinitrobenzoesäurelösung. Die nach der Technik am hängenden Mikrotropfen[2] durchgeführten Fällungsreaktionen ergeben z. T. charakteristische Kristalle (Mikrophotos im Original). In einer Tabelle sind die Reaktionen von 40 Alkaloiden beschrieben. Eine weitere Tabelle enthält Mikrofarbreaktionen (ausgeführt nach[2]) mit Formaldehyd-Schwefelsäure (Marquis-Reagens), Ammoniumvanadat, Ammoniummolybdat, Selendioxyd und Vitali's Reagens. K. Söllner

Einen Überblick über die Analytik des Theophyllins und seiner Derivate gibt J. Bosly[3] an Hand von 153 Literaturhinweisen. Die Identifizierung des Theophyllins in Mischungen, wie sie in Medikamenten vorkommen, führt man am sichersten heute papierchromatographisch durch, nachdem man vorher von störenden Stoffen durch Extraktion mit Chloroform-Isopropanol (3 : 1) aus saurer oder hydrogencarbonatalkalischer Lösung abgetrennt hat. Bei der quantitativen Bestimmung haben sich folgende Methoden bewährt: Fällungsverfahren mit Silbernitrat, Modifikation der Methode von A. N. Stevens und D. T. Wilson[4]: Die etwa 0,1—0,25 g

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **9**, 187—192 (1957). Roy. Veterinary College, London.

[2] Clarke, E. G. C., und M. Williams, J. Pharmacy Pharmacol. **7**, 255 (1955); vgl. diese Z. **151**, 68 (1956).

[3] J. Pharmac. Belgique, N. S., **11**, 387—422 (1956). Univ. Lüttich (Belgien).

[4] J. Amer. pharmac. Assoc. **26**, 314 (1937).

Theophyllin enthaltende Probe wird mit 50 ml Wasser und 7 ml 10%igem Ammoniak durch Erhitzen auf dem Wasserbad zur Lösung gebracht. Nach Zugabe von 20 ml 0,1 n Silbernitratlösung wird noch 15 min weiter erhitzt. Man kühlt in Eiswasser ab, filtriert und wäscht dreimal mit 10 ml Eiswasser. Das Filtrat wird mit Salpetersäure angesäuert; nach Zugabe von 2 ml Eisenalaunlösung titriert man den Überschuß an Silbernitrat mit 0,1 n Ammoniumrhodanidlösung zurück. 1 ml 0,1 n Silbernitratlösung $\simeq$ 0,0180 g wasserfreies Theophyllin. In Gegenwart von Chlorionen verfährt man so, daß man den Niederschlag von Silbertheophyllinat mit Salpetersäure löst und in dieser Lösung die Silbermenge titrimetrisch bestimmt. — Nach einem Verfahren von E. Schulek und P. Rózsa[1] kann man Theophyllin auch bestimmen durch Titration der bei der Umsetzung mit $AgNO_3$ freigewordenen HNO_3. — Ein Fällungsverfahren mit Quecksilbernitrat stammt von J. Bosly[2]. Man löst die Theophyllin enthaltende Probe in der Wärme, so daß eine Konzentration an Theophyllin zwischen 0,5 und 5 g je 1000 ml resultiert. Nach Abkühlen fügt man eine etwa 5%ige Quecksilberacetatlösung hinzu, deren Titer genau bekannt ist und zwar in einer Menge, die das 1,5fache der theoretisch erforderlichen beträgt. Man überläßt die Lösung 30 min sich selbst und schüttelt gelegentlich um. Man filtriert durch Glasfiltertiegel (Jena G 4) und spült 3mal mit je 10 ml Wasser nach. Zu dem Filtrat gibt man Salpetersäure und Eisen(III)-alaun und titriert mit 0,1 n Ammoniumrhodanidlösung zurück. Die Methode ist auch in Gegenwart reduzierender Substanzen wie Lactose anwendbar, wo die Bestimmung mit $AgNO_3$ unmöglich ist. — Von A. J. Plummer[3] stammt eine Methode zur Bestimmung von Theophyllin in Blut und Urin mit Kupferacetat: Nach Klärung wird Theophyllin mit Chloroform-Isopropanal (3 : 1) ausgezogen. Der Extrakt wird eingedampft, der Rückstand mit wasserfreiem Methanol aufgenommen und das Theophyllin mit einer Lösung von Kupferacetat in Methylalkohol gefällt. Der Kupfer-Theophyllinniederschlag wird in ungefähr 0,2 n Schwefelsäure gelöst, das Cu jodometrisch bestimmt. 1 mg Theophyllin entspricht 0,57 ml 0,02 n Natriumthiosulfatlösung. — Ein spektrophotometrisches Verfahren haben E. B. Truitt, C. J. Carr und H. M. Bubert[4] angegeben, bei dem Theophyllin durch Kochen in 50%iger Kalilauge während 20 sec in Theophyllidin übergeführt wird. Nach Neutralisation mit 50%iger Essigsäure gibt man eine Lösung des Komplexes $ZnCl_2$-1-Amino-4-benzylamino-2,5-diäthoxyazobenzol (Fast Blue 2 B-Salz) in Isopropanol zu und mißt bei 525 mμ. (Empfindlichkeit 0,1 mg in 5 ml Lösung). Theobromin, Coffein, Harnsäure, Kreatin und ähnliche Verbindungen stören hierbei nicht. — Die spektrophotometrische Bestimmung im UV-Bereich bei 270 mμ ist von großer Genauigkeit (Konzentration zwischen 2 und 15 μg je ml). Das zweite Maximum bei 206 mμ, bei der die Substanz fast die doppelte Extinktion besitzt, ist weniger zu empfehlen, da dieses Maximum je nach Arbeitsweise leichten Schwankungen unterliegt. Für Bestimmungsverfahren mit Hilfe der Extraktion ist als Extraktionsmittel die Mischung Chloroform-Isopropanol (3 : 1) am besten geeignet, wobei man zweckmäßig aus hydrogencarbonatalkalischer Lösung extrahiert. — In Gegenwart von Barbituraten wird vorgeschlagen, das Theophyllin mit $AgNO_3$ zu fällen, den Niederschlag mit Salpetersäure aufzulösen und rhodanometrisch zu bestimmen. Es werden verschiedene Beispiele für pharmazeutische Präparate, die Theophyllin enthalten, gegeben. — *Bestimmung von Theophyllin-7-essigsäure.* In einem 20 ml-Meßkölbchen wird die Probe, 0,10–0,20 g der Substanz enthaltend, in 10%iger Natronlauge gelöst und gegen Phenophthalein bis zur schwachen Rosafärbung mit verd. Schwefelsäure neutrali-

[1] Diese Z. **122**, 112 (1941).
[2] J. Pharmac. Belgique **1949**, 3.
[3] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **93**, 142 (1948).
[4] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **91**, 185 (1947).

siert. Man fügt 10 ml 0,1 n Silbernitratlösung zu, mischt durch und läßt 15 min stehen. Man filtriert und bestimmt den Überschuß rhodanometrisch. — Bei der Bestimmung mit Quecksilberacetat löst man auf dem Wasserbad in 70 ml eine Probe, die zwischen 0,1 und 0,2 g Theophyllinessigsäure enthält. Nach Abkühlen fügt man 5 ml 5%ige Quecksilberacetatlösung hinzu und läßt 30 min stehen. Man filtriert durch einen Glasfiltertiegel und wäscht 3mal mit 10 ml Wasser nach. Im Filtrat wird nach Ansäuern mit 3 ml Salpetersäure der Überschuß rhodanometrisch zurücktitriert. 1 ml 0,1 n Quecksilberacetatlösung entspricht 0,0204 g Theophyllinessigsäure (1 H_2O). Zur spektrophotometrischen Messung läßt sich die Absorption bei 274 mμ heranziehen, die zweckmäßig noch durch diejenige bei 219 mμ gestützt wird. Es werden einige Beispiele für die Bestimmung in pharmazeutischen Präparaten neben anderen Substanzen gegeben. — *Dihydroxypropyltheophyllin* läßt sich quantitativ mit Perjodsäure nach A. Wickström und A. Valseth[1] bestimmen. Das Verfahren ist auch in Gegenwart von Theophyllin, Theophyllinessigsäure und anderen Theophyllinderivaten anwendbar. Spektrophotometrisch läßt sich die Substanz nach K. Söderström[2] bestimmen, indem man mit Phosphomolybdänsäure fällt, den Niederschlag in Aceton löst und photometriert oder indem man die Absorption der wäßrigen Lösung von Dihydroxypropyltheophyllin bei 273 mμ mißt.

L. Acker

Über das Verhalten der Tabakalkaloide bei der Papierelektrophorese berichten H. Michl, H. Kuhn und H. Bühn[3]. Der Nachweis einer Anzahl Tabakalkaloide mittels der Papierionophorese wird aufgezeigt und die Zusammenhänge zwischen der chemischen Konstitution und der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit werden diskutiert. Für die Versuche wird eine vereinfachte Form (Abb. 1)

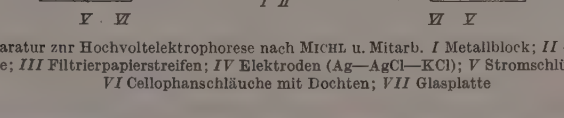


Abb. 1. Apparatur zur Hochvoltelektrophorese nach Michl u. Mitarb. *I* Metallblock; *II* dünne Glasplatte; *III* Filtrierpapierstreifen; *IV* Elektroden (Ag—AgCl—KCl); *V* Stromschlüssel; *VI* Cellophanschläuche mit Dochten; *VII* Glasplatte

der bereits früher beschriebenen Apparatur[4] für Hochvoltelektrophorese verwendet. Die Durchführung der Ionophorese erfolgt auf mit Pufferlösungen von p_H 5,0 (Kaliumhydrogenphthalat-NaOH-Puffer nach Clark und Lubs, 1 : 1 verdünnt) und p_H 9,2 (0,025 m Boraxlösung) getränkten Filtrierpapierstreifen (40 × 40 cm, Schl. & Sch. 2043b, glatt) bei einem Spannungsgefälle von ungefähr 50 V/cm über eine Zeit von 20 min bis 2 Std. Die Lösung der Substanz (15—50 μg in 10—20 μl Puffer) wird mit m-Nitranilin (zur Markierung der Ausgangsstellung) strichförmig normal zur Längsrichtung des Filtrierpapierstreifens aufgetragen. Zum Nachweis der einzelnen Verbindungen werden neben der König-Reaktion mit Bromcyan und aromatischen Aminen auch haltbare Anfärbungen durch Behandlung der Papierstreifen mit einer 0,2%igen Bromphenollösung in mit $HgCl_2$ gesättigtem Äthanol verwendet. Der überschüssige Farbstoff wird mit Alkohol und Wasser ausgewaschen. Nach

[1] Ann. pharmac. franç. **12**, 576 (1954); vgl. diese Z. **147**, 459 (1955).

[2] Communicat. Congr. Fédér. Internat. Pharm., Londres 1955.

[3] Fachl. Mitt. österr. Tabakregie **1956**, 1—4. II. Chem. Univ.-Labor und Austria Tabakwerke A.G., Wien.

[4] Michl, H.: Mh. Chem. **83**, 737 (1952); vgl. auch diese Z. **151**, 364, 453 (1956).

dieser Methode lassen sich noch 10 μg der meisten Tabakalkaloide nachweisen. Durch Besprühen des Streifens mit einer 1%igen Lösung von Isatin in Butanol, das 5% Eisessig enthält, gelingt ein empfindlicher Nachweis von Nornicotin. — Die elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeiten einiger Tabakalkaloide, die bei verschiedenen p_H-Werten unter bestimmten Bedingungen (Feldstärke ungefähr 50 V/cm, Feuchtigkeitsgehalt des Papierstreifens 50%, Temperatur 10°C) erhalten werden, sind in einer Tabelle der Originalarbeit zusammengestellt. Es sind folgende Regelmäßigkeiten zu beobachten: Verbindungen mit einem sekundären N-Atom (*Nornicotin, Anabasin, Anatabin, Metanicotin*) wandern schneller als die entsprechenden Verbindungen mit einem dreifach substituierten N-Atom (*Nicotin, N-Methylanabasin, N-Methylanatabin, N-Methylmetanicotin*). Ausnahmen sind *Nicotyrin* und *Nornicotyrin*. — Die Verbindungen mit einer aliphatischen Seitenkette (*Metanicotin, Methylmetanicotin*) wandern rascher als die entsprechenden cyclischen Derivate (*Nicotin*). Verbindungen mit Doppelbindungen im zweiten Ring (*Anatabin, Nornicotyrin*) wandern langsamer als solche mit gesättigten Systemen (*Anabasin, Myosmin, Nornicotin*). An das N-Atom gebundener Sauerstoff setzt die Wanderungsgeschwindigkeit stark herab (*Oxynicotin* gegenüber *Nicotin*).

K. Machner

Die papierchromatographische (p-chr) Reinheitsprüfung der therapeutisch verwendeten Solanaceen-Alkaloide Atropin (I), Hyoscyamin (II) und Scopolamin (III) beschreiben J. Büchi und H. Schumacher[1]. *Allgemeine Technik.* Die Entwicklung erfolgt absteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 (10—20×48 cm), quer zur Faserrichtung in der wasserdampfgesättigten Apparatur von A. Dumas (Zürich 7/44, Schmelzbergstraße 26), vor Licht geschützt bei 19—21°C. Bei 3½stündiger Laufzeit erreichen die P-chr eine Länge von 30 cm. Zur Sichtbarmachung der Alkaloide besprüht man die halbfeuchten P-chr mit Dragendorff-Reagens, wobei scharf umrandete braune Flecken auf weißem Grunde entstehen. — *Verfahren A.* Das Papier wird mit Pufferlösung von p_H 6,6 nach Kolthoff getränkt. Die mobile Phase besteht aus 50 Tl. Isobutanol, das durch 2stündiges Kochen mit Zn-Staub und starkem Alkali und darauffolgendes 2maliges Destillieren gereinigt wurde und 50 Tl. Toluol, das 4 Std mit 7%iger Schwefelsäure geschüttelt, dann mit Natronlauge nachgewaschen und anschließend rektifiziert wurde. Die Alkaloide trägt man in Form ihrer Salze oder Basen in Chloroform oder Methanol gelöst mit einer Mikropipette auf, so daß der Durchmesser des Kreises 1 cm beträgt. Es ergeben sich folgende R_f-Werte: I 0,18, II 0,16, Homatropin 0,08, III 0,57, Apoatropin 0,65, Tropin 0,03. — *Verfahren B.* Man entwickelt die auf das ungetränkte Papier aufgebrachten Alkaloide I und D- bzw. L-II mit wäßriger Borat-Phosphat-Pufferlösung von p_H 6,6. D-II zeigt R_f 0,80, L-II R_f 0,56. — *Verfahren C.* Man puffert das Papier mit einer Lösung von p_H 5,8, trägt die Alkaloidbasen in einen geringen Überschuß Di-(p-toluyl)-L-Weinsäure enthaltendem Methanol gelöst auf und entwickelt mit wassergesättigtem Isobutanol-Toluol 50 : 50. Die R_f-Werte betragen für I 0,19, II 0,29, III 0,52 und Tropin 0,03. — Zur *Reinheitsprüfung* von I mischt man 1,00 ml der Stammlösung (0,05 g/l) mit 1,00 ml 10%iger alkoholischer Kalilauge und p-chr 0,02 ml der Verdünnung (= 500 μg I) nach Verfahren B. Es dürfen nur 2 Farbflecke mit den R_f-Werten etwa 0,56 (L-II) und etwa 0,80 (D-II) erscheinen. II untersucht man nach der gleichen Methode, wobei nur ein Flecken mit R_f etwa 0,56 (L-II) sichtbar werden darf. Für die Prüfung von III verdünnt man 1,00 ml Stammlösung (= 0,025 g III) mit 4,00 ml Wasser und entwickelt 0,10 ml (= 500 μg) der Verdünnung nach Verfahren A. Außer einem Farbflecken von R_f-Wert etwa 0,51 dürfen keine weiteren Alkaloidspuren mehr sichtbar sein.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 75—88 (1957). Eidg. Techn. Hochsch. Zürich.

Über die papierchromatographische (p-chr) Analyse von Atropin (I) und dessen Hydrolyseprodukten Tropin (II) und Tropasäure (III) in biologischem Material berichten H. Schriftman und A. A. Kondritzer[1]. Man homogenisiert das Analysenmaterial mit 5 ml 5%iger Trichloressigsäure(TCE)-lösung, zentrifugiert, gießt die blanke Flüssigkeit ab und extrahiert den Rückstand erneut mit 5 ml TCE-Lösung. Die vereinigten Auszüge werden mit 10%iger Ammoniaklösung auf p_H 9 gebracht und dann 3mal mit je 5 ml Chloroform (Chlf) ausgeschüttelt. Die Chlf-Auszüge gibt man zusammen, wäscht sie einmal durch Ausschütteln mit Wasser, dampft sie im Vakuum zur Trockne ein und nimmt den Abdampfrückstand wieder in 1 Tropfen Chlf auf. Von dieser Lösung trägt man je 0,005 ml auf Whatman Nr. 1-Papier auf und chromatographiert nach bekanntem Verfahren absteigend mit der organischen Phase einer kräftig durchgeschüttelten Mischung von 100 ml n-Butanol, 20 ml konzentrierter Salzsäure und 60 ml Wasser. Nach 20stündiger Entwicklung trocknet man das P-chr 2 Std an der Luft und besprüht es mit modifiziertem Dragendorff-Reagens (siehe unten). I (mit R_f 0,95) und II (mit R_f 0,70) erscheinen als rote bzw. kirschrote Flecke auf blaß orangefarbenem Grund. Die quantitative Bestimmung führt man mit einem Photovolt Densitometer Modell 525 aus, wobei man für I ein 530 mμ-Filter, für II ein 570 mμ-Filter vorschaltet. Das Verfahren, mit dem mehr als 90% des vorhandenen Alkaloides erfaßt werden können, ist geeignet für I-Mengen von 2—25 μg. — Entwickelt man die P-chr mit der oberen Phase des Systems n-Butanol-Essigsäure-Wasser (10 : 1 : 6) und besprüht man nach 1stündigem Trocknen an der Luft mit Bromphenolblaulösung (siehe unten), so erscheinen I (R_f = 0,58) und II (R_f = 0,41) als tief purpurrote, III (R_f = 0,86) als gelber Flecken auf leicht blaugrünem Grunde, wobei der Flecken von III nach einigen Stunden intensivere Färbung annimmt. Die quantitative Bestimmung (im Bereich von 10—100 μg) erfolgt in diesem Falle densitometrisch bei 570 mμ für I und II und bei 440 mμ für III. — *Dragendorff-Reagens.* 1. Man löst 0,85 g Wismutsubnitrat in 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig. 2. 8 g Kaliumjodid werden in 20 ml Wasser gelöst. Unmittelbar vor dem Gebrauch mischt man je 5 ml 1. und 2. mit 20 ml Eisessig und 100 ml Wasser. — *Bromphenolblaulösung.* Man verreibt 10 mg Bromphenolblau in einem Mörser mit 1,5 ml 0,01 n Natronlauge und füllt mit Wasser auf 100 ml auf.

J. Levine und H. Fischbach[2] verbessern ihre früher[3] beschriebene verteilungschromatographische Methode zur *Trennung von Protoveratrin (Pv) A und B*, so daß die beiden Stoffe auch von den in Handelspräparaten enthaltenen Fremdalkaloiden abgetrennt werden. Für die Trennung von Pv A, Pv B und Germitetrin wird ein papierchromatographisches Verfahren angegeben. — *Ausführung. Verteilungschromatographie.* Man suspendiert 2 g mit Säure gewaschenes Celite in 50 ml Benzol, fügt unter starkem Rühren tropfenweise 2 ml einer Mischung aus 3 Tl. McIlvaine-Pufferlösung von p_H 3,0 und 1 Tl. Äthylenglykol zu, überführt die Suspension in eine Röhre von 18 × 280 mm und drückt das Celite soweit fest, daß in der Minute 4—5 ml Flüssigkeit durchtropfen. Dann löst man 2—5 mg der Pv-Probe in 1 ml Äthylenchlorid, fügt zu der Lösung 3 ml Tetrachlorkohlenstoff und bringt die Alkaloidlösung auf die Säule. Anschließend eluiert man nacheinander mit a) 150 ml einer Mischung von 3 Vol. CCl_4 und 2 Vol. Äthylenchlorid, dann mit b) 100 ml Äthylenchlorid, c) 150 ml einer Mischung von 2 Vol. Chloroform und 1 Vol. Äthylenchlorid und d) 100 ml Chloroform. Je nach der Zusammensetzung der Ana-

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **46**, 173—176 (1957). Army Chem. Center, Maryland (USA).

[2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **46**, 191—192 (1957). Dptm. Health, Educat. Welfare, Washington 25, D. C. (USA).

[3] Levine, J., und H. Fischbach: J. Amer. pharmac. Assoc., sci., Edit. **44**, 543, 713 (1955); vgl. diese **Z. 152**, 315 (1956); **153**, 446 (1956).

lysenprobe müssen die angegebenen Mengen der Eluierungsmittel gegebenenfalls etwas variiert werden. Beim Durchlauf von a) wird Pv A quantitativ eluiert, b) entfernt fremde Alkaloide, deren hydrophiler Charakter zwischen dem von Pv A und B liegt. Pv B wird restlos mittels der Fraktion c) ausgewaschen, während durch d) Alkaloide gelöst werden, die hydrophiler sind als Pv B. Die getrennten Alkaloide werden wie früher beschrieben quantitativ bestimmt[1]. — *Papierchromatographie.* Man erreicht eine scharfe Trennung von Germitetrin, Pv A und Pv B, wenn man als mobile Phase das System Äthylenchlorid-Cellosolveacetat-Pyridin 15 : 10 : 1 (v v) auf p_H 3,5-gepuffertem Papier[1] verwendet. Die entsprechenden R_f-Werte sind 0,5; 0,7 und 0,25. Zur Lokalisierung der Flecken dient Bromphenolblau[1]. K. Söllner

Über eine Methode zum Nachweis und zur halbquantitativen Bestimmung von Scopolamin in Novopon-Scopolamin- und Morphin-Diolan-Scopolamin-Präparaten durch Papierchromatographie berichtete J. Reichelt[2]. Es wurde mit Gemischen von Morphin, Äthylmorphin und Scopolamin in verschiedenen Verhältnissen bis zu 100 : 120 : 1 gearbeitet. — *Ausführung.* Die Injektionslösung wird mit nNaOH-Lösung gegen Phenolphthalein alkalisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Lösung wird auf etwa 0,5 ml eingedampft und auf 2 Stellen des Chromatographierpapieres (Whatman Nr. 1 oder 2, 12 × 40 cm) aufgetragen. Das Papier wird dann mit Formamid-Äthanolgemisch (1 : 1) imprägniert und nach 10 min im System Benzol-Chloroform (1 : 1) im Laufe von 50 Std absteigend chromatographiert. Auf dem Kontrollstreifen wird der Scopolaminfleck mit Dragendorff-Reagens sichtbar gemacht. Die entsprechende Stelle wird auf dem ersten Papier ausgeschnitten und mit der Lösung von 6 ml Eisessig — 50 ml Methylalkohol — Wasser auf 100 ml eluiert. Das Eluat wird zur Trockne verdampft, der Rückstand wird mit 2 ml Methanol aufgenommen und die Lösung auf 0,5 ml eingeengt. Man überträgt sie auf ein mit 0,2n KH_2PO_4-Lösung imprägniertes und getrocknetes Papier. Es wird aufsteigend im System Isopropylalkohol-Wasser (75 : 25) etwa 30 Std entwickelt. Bekannte Mengen (20—50 μl) 0,2%iger Scopolaminbromidlösung laufen mit. Man macht die Flecken schließlich wieder mit Dragendorff-Reagens sichtbar und vergleicht die Farbintensitäten. Z. Stejskal

Zur quantitativen Bestimmung von Morphin in Mohnkapseln verwenden A. Bratina, M. Perpar und M. Tišler[3] mit geringen Abänderungen das von C. H. van Etten u. Mitarb.[4] angegebene Verfahren, das auf der Isolierung des Alkaloids mit Hilfe von Ionenaustauschern und der colorimetrischen Bestimmung in Form des orange gefärbten Nitrosomorphins beruht. Geeignete Ionenaustauscher sind Zerolit (mit 2% Divinylbenzol) und De Acidite FF. — *Ausführung.* 5 g feingemahlene, reife Mohnkapseln, deren Wassergehalt vorher bestimmt wurde, werden mit 200 ml Wasser im Soxhletapparat 5 Std extrahiert. Der Extrakt wird filtriert und mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt. 50 ml dieser Lösung läßt man durch 3 vorbereitete Ionenaustauschersäulen (je 5—6 cm hoch) fließen. Die 1. Säule enthält Zerolit mit 2% Divinylbenzol in H-Form (vorbereitet durch Auswaschen mit 10 ml 3n Salzsäure, danach mit ionenfreiem Wasser bis zur neutralen Reaktion), die 2. Säule enthält De Acidite FF in OH-Form (vorbereitet durch Auswaschen mit 10 ml 1n Natronlauge, danach mit ionenfreiem Wasser), die 3. Säule enthält Zerolit (mit 2% Divinylbenzol) in Na-Form (vorbereitet durch Auswaschen mit 10 ml 1n Natron-

[1] Siehe Fußnote 3, S. 379.

[2] Českoslov. Farmac. **6**, 249—251 (1957) [Tschechisch]. (Mit dtsch., engl. u. russ. Zus.fass.). Pharmaz. Kontrollinst. Prag.

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 167—173. Univ. Ljubljana (Jugoslawien).

[4] van Etten, C. H., R. F. Earle, T. A. McGuire und F. R. Senti: Analyt. Chemistry **28**, 867 (1956); vgl. diese Z. **156**, 230 (1957).

lauge, danach mit ionenfreiem Wasser). Nachdem die 50 ml Lösung durch die 1. Säule geflossen sind, wird mit 5 ml entionisiertem Wasser ausgewaschen, dann mit 50 ml 0,5n Ammoniak eluiert. Das Eluat wird auf die 2. Säule gegossen, mit 5 ml ionenfreiem Wasser gespült und mit 50 ml 1n Essigsäure eluiert. Das Eluat wird mit 1 ml 1n Salzsäure angesäuert, auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 10 ml Wasser gelöst und auf die 3. Säule gebracht. Diese wird mit Wasser gespült, mit 50 ml einer Boratpufferlösung vom p_H-Wert 8,6 ausgewaschen und mit 225 ml einer Boratpufferlösung vom p_H-Wert 9,4 eluiert. Das 1. Eluat wird verworfen, dem 2. werden 3 ml 3n Salzsäure zugesetzt. Die Lösung wird auf dem Wasserbad auf etwa 30 ml eingeengt, nitrosiert und auf 50 ml aufgefüllt. 10 ml davon werden mit dem lichtelektrischen Universalcolorimeter nach Dr. B. Lange colorimetriert. Eva Neuhaus

Der Morphin-Marmé-Komplex stellt nach L. Levi[1] einen sehr empfindlichen Mikronachweis für dieses Alkaloid dar. *Reagens.* Man löst in 1 l 0,2 m Cadmiumjodidlösung 0,8 Mol Kaliumjodid, wodurch der Komplex K_2CdJ_4 gebildet wird. *Ausführung.* Zu 0,1 μl einer 0,1%igen wäßrigen Morphinhydrochloridlösung gibt man 0,03 μl des Reagenses. Innerhalb von 1 min bilden sich feine, lange Nadeln des Marmé-Komplexes ($C_{17}H_{19}O_3N$) (CdJ_2), die sich im Laufe einiger Minuten rasch vermehren (Mikrophotos im Original). Es lassen sich noch 0,1 μg Morphin unter dem Mikroskop eindeutig nachweisen. Das Original enthält ausführliche präparative und analytische Angaben über den Morphin-Marmé-Komplex, einschließlich des UV- und IR-Absorptionsspektrums sowie des Debye-Scherrer-Diagramms, der Messungen der optischen Drehung, der Löslichkeit usw. K. Söllner

F. Šantavý, D. V. Zajíček und A. Němečková[2] berichten in Zusammenhang mit früheren Untersuchungen[3] über den Gehalt an *Colchicum-Alkaloiden* in den Knollen und Samen verschiedener *Herbstzeitlosearten* (Colchicum Hierosolymitanum usw.). Zur Isolierung und Identifizierung der Alkaloide dienen die bereits früher[3] beschriebenen säulen- und papierchromatographischen Methoden im Verein mit Extraktionsverfahren. A. Kurtenacker

Das analytische Verhalten von D 860 (p-Toluol-sulfonyl-n-butylharnstoff) und seines Inaktivierungsproduktes, einer subst. Benzoesäure, sowie die Löslichkeit beider Stoffe in den wichtigsten Lösungsmitteln beschreibt Th. Dorfmüller[4] im Anschluß an eine frühere Mitteilung[5]. Für Nachweis und Bestimmung dieses analytisch trägen Antidiabeticums sind nach eingehenden, systematischen Untersuchungen verschiedene Methoden geeignet. Zur quantitativen Bestimmung ermittelt man den N-Gehalt indem man den Stickstoff nach Kjeldahl in Ammoniak überführt, das anschließend durch acidimetrische Titration, mit Nesslers Reagens, mit der Hypobromitmethode oder Ninhydrin bestimmt wird. Die Harnstoffgruppierung ermöglicht eine Farbreaktion mit Diacetylmonoxim und N-Phenylanthranilsäure, die bei D 860 sehr intensiv, bei der Carbonsäure schwächer ausfällt. Die Färbung kann mit einem mittleren Fehler von 2—3% photometriert werden. Während D 860 und die Carbonsäure weder mit Hypobromit noch mit Nesslers Reagens reagieren, lassen sie sich nach Überführung in die Ammoniumsalze mit Hypobromit titrieren. Die starke Nessler-Reaktion der Ammoniumsalze kann man auch zu einem

[1] Analyt. Chemistry **29**, 470—474 (1957). Dptm. Nat. Health Welfare, Ottawa (Canada).

[2] Chem. Listy **51**, 597—602 (1957) [Tschechisch]. Univ. Olmütz (ČSR).

[3] Vgl. u. a. diese Z. **147**, 462 (1955); **151**, 214 (1956).

[4] Ärztl. Labor. **3**, 8—10 (1957). Städt. Krankenanstalten Augsburg.

[5] Dorfmüller, Th.: Ärztl. Labor. **2**, 264 (1956); vgl. diese Z. **159**, 393 (1958).

Tüpfelnachweis verwenden. Weitere Bestimmungsmethoden beruhen auf der Freisetzung von Jod aus Jodat-Jodid durch die sauren Gruppen von D 860 und besonders der Carbonsäure. Zum Nachweis der Carbonsäure eignet sich auch die Fällung mit Salzen von Schwermetallen, wie Hg, Pb, Zn und Cu. Weitere Nachweis- und Bestimmungsmethoden ergeben sich durch Farbreaktionen des Benzolkerns nach Nitrierung oder durch Überführung des Schwefelgehaltes in Sulfat. — Ausführliche Arbeitsvorschriften sind im Original enthalten. MARGOT ZIMMERMANN

Über die chromatographische Trennung und Analyse von Naphazolin und seinen Hydrolyseprodukten berichten M. A. SCHWARTZ, R. KURAMOTO und L. MALSPEIS[1]. Naphazolin [2-(1-Naphthylmethyl)-2-imidazolin] und die bei seiner Hydrolyse in neutraler oder alkalischer Lösung erhaltenen Verbindungen (1-Naphthylacetyläthylendiamin und 1-Naphthylessigsäure) werden mit Hilfe der Verteilungschromatographie getrennt und im Eluat spektrophotometrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* Zur Bestimmung von *1-Naphthylessigsäure* werden 2 ml der Probelösung mit 2 g Kieselsäure zu einem Brei verrieben und mit Chloroform versetzt, bis eine dünne Aufschlämmung erhalten wird. Die Aufschlämmung wird auf eine chromatographische Säule gebracht (Länge 40 cm, ⌀ 2 cm, bepackt mit 15 g Kieselsäure, stationäre Phase 15 ml Wasser, bewegliche Phase Chloroform) und 2mal mit je 5 ml Chloroform in die Säule gewaschen. Man eluiert mit Chloroform, fängt 100 ml des Eluats im Meßkolben auf und mißt die Extinktion der erhaltenen Lösung bei 283 mμ. [1-Naphthylessigsäure zeigt maximale Absorption bei 283 mμ, E (1%, 1 cm) = 360.] — Zur Bestimmung von *Naphazolin* und *1-Naphthylacetyläthylendiamin* werden 2 ml der Probelösung auf eine chromatographische Säule gebracht (Länge 40 cm, ⌀ 2 cm), die mit 20 g Celite 545 bepackt ist [man schlämmt das Harz mit 175 ml eines Gemisches aus n-Heptan und Chloroform (65 : 35) auf und fügt dann tropfenweise unter ständigem Rühren Boratpufferlösung (p_H 8,5) hinzu]. Sobald die Probelösung in die Säule eingezogen ist, wird mit n-Heptan-Choroform (65 : 35) entwickelt. Die ersten 70 ml des Eluats werden verworfen, weitere 125 ml im Meßkolben aufgefangen und auf ihren Gehalt an Naphazolin spektrophotometrisch untersucht [Naphazolin zeigt maximale Absorption bei 282 mμ, E (1%, 1 cm) = 340]. 1-Naphthylacetyläthylendiamin wird unter Verwendung von 100%igem Chloroform als Eluans vom Harz gelöst. Man verwirft die ersten 10 ml des Eluats, fängt weitere 100 ml im Meßkolben auf und mißt die Extinktion der erhaltenen Lösung bei 284 mμ [E (1%, 1 cm) = 314]. — Die Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen beträgt die Genauigkeit der Methode ± 3%. K. MACHNER

4. Analyse von biologischem Material

Papierchromatographie für mikrobiologische Untersuchungen. A. J. JÄGER[2] gibt einen Überblick über die Anwendungsmöglichkeiten der Papierchromatographie zu qualitativen und quantitativen Analysen in der mikrobiologischen Forschung. Besonders werden dabei die Untersuchungen auf den Gebieten der Vitamine, Antibiotica, Enzyme, Polysaccharide, der Zellsubstanzen, Stoffwechselprodukte und Mikroorganismen hervorgehoben. D. JENTZSCH

Die Elektrophorese von Blutserum in Acetatpuffern von p_H 4,2—5,2 wird von V. KALOUS und J. POLÁČEK[3] untersucht, um die Wanderungsgeschwindigkeit und

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **45**, 814—817 (1956). Columbia Univ. New York, N. Y. (USA).

[2] Chem. Weekbl. **1957**, 161—163 [Holländisch].

[3] Chem. Listy **50**, 1656—1659 (1956) [Tschechisch]. Collect. czechoslov. chem. Commun. **22**, 615 (1957). Univ. Prag.

den isoelektrischen Punkt der Verbindung M-2 (die neben dem *Mucoprotein* M-1, den Globulinen A, B, C und Albumin im Serum vorkommt) festzustellen. Die Durchführung der Versuche geschieht im wesentlichen nach der von V. KALOUS[1] bereits beschriebenen Arbeitsweise. — Es ergibt sich, daß die Abhängigkeit der Beweglichkeit der Verbindung M-2 vom p_H-Wert den Charakter einer Dissoziationskurve besitzt. Der isoelektrische Punkt entspricht p_H 4,33. Die Verbindung M-2 ist also saurer als Albumin und Globulin. Ihr elektrophoretisches Verhalten ähnelt dem des α_2-Glucoproteins im Blut. H. FREYTAG

Zur Bestimmung von despezifiziertem Rinderserum in biologischem Material beschreiben V. FRIČOVÁ und T. I. PŘISTOUPIL[2] in einer kurzen Mitteilung ein turbidimetrisches Verfahren, das einfacher durchzuführen ist als die bisher empfohlenen Verfahren. — *Ausführung.* Man versetzt 0,2 ml verdünntes Kaninchenplasma [Blut mit Antikoagulationslösung (0,3 g Natriumoxalat + 0,9 g NaCl in 100 ml) 1:5 verdünnt] mit 3 ml Acetatpuffer p_H 4,2, schüttelt und mißt die Trübung nach 15 min Stehen bei 18—22° C mit dem Pulfrich-Photometer gegen Wasser. Vom Resultat ist ein Blindwert abzuziehen, den man mit dem Blut des gleichen Tieres vor Zugabe des despezifierten Serums erhält. A. KURTENACKER

Zur Bestimmung der Kohlenoxydgehalte von Blut in Fällen von akuter und chronischer *Kohlenoxydvergiftung* benutzen H. MOUREU, P. CHOVIN, L. TRUFFERT und J. LEBBE[3] ein handelsübliches Uras-Gerät. Dabei gelingt es den Verff. mit Hilfe der nachstehend beschriebenen, allgemein anwendbaren Anordnung, das für die Bestimmung notwendige Blutvolumen außerordentlich klein zu halten ($\sim$ 1 ml). Die zu untersuchende Blutprobe wird zunächst in einer speziellen Extraktionsapparatur, deren Einzelheiten man dem Original entnehmen möge, unter vermindertem Druck entgast. Das extrahierte, sämtliches CO enthaltende Gasvolumen wird in einer Ampulle gesammelt, deren Volumen um ein Mehrfaches kleiner ist als das der Meßküvette im Uras-Gerät. Aus dieser Ampulle wird es durch einen langsamen Strom eines geeigneten Trägergases (z. B. Stickstoff) in die Küvette des meßbereiten Gerätes überführt. Die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases ist so einzurichten, daß sich während einer gewissen Zeit das gesamte zu untersuchende Gas in der Meßküvette befindet, so daß das Anzeige- bzw. Registrierinstrument während dieser Zeit einen konstanten Wert angibt. Zur Füllung der Vergleichsküvette dient das reine Trägergas. Die Empfänger werden mit Kohlenoxyd gefüllt. Zur Eichung mißt man in der gleichen Weise die bei bekannten vorgegebenen Kohlenoxydmengen resultierenden Maximalwerte. Das Verfahren ist auch bei Gehalten von weniger als 0,4% Kohlenoxyd im Blut (Normalwert bei Großstadtbevölkerung) anwendbar. Seine Genauigkeit entspricht der der Eichmessungen. Eine Einzelbestimmung erfordert 12—15 min. — Das gleiche Verfahrensprinzip läßt sich zur quantitativen Bestimmung kleiner Mengen anderer Gase benutzen. H. SPECKER

Zur Cyanidbestimmung in biologischem Material verwenden V. MUNK und J. MATOUŠKOVÁ[4] das photometrische Verfahren von E. ASMUS und H. GARSCHAGEN,[5] das auf der Überführung des Cyanidions in Chlorcyan und dessen Farbreaktion mit Barbitursäure in Pyridinlösung beruht. Aus dem biologischen Material

[1] KALOUS, V.: Chem. Listy **48**, 747 (1954); Collect. czechoslov. chem. Commun. **19**, 1039 (1954); vgl. diese Z. **149**, 229 (1956).

[2] Chem. Listy **51**, 385—386 (1957) [Tschechisch]. Inst. f. Hämatologie und Bluttransfusion, Prag.

[3] Chim. analytique **39**, 3—9 (1957). Lab. municipal Paris.

[4] Československ. Farmac. **6**, 252—255 (1957) [Tschechisch]. (Mit dtsch., engl. u. russ. Zus.fass.). Forsch.-Inst. Lebensmitteltechnol. Prag (ČSR).

[5] ASMUS, E., und H. GARSCSAGEN, diese Z. **138**, 414 (1953).

wird das Cyanid zunächst durch Wasserdampfdestillation in Form von Blausäure isoliert. 2 μg CN^- können auf diese Art in 1—5 g Probe mit der Genauigkeit $100\% = 2\%$ bestimmt werden. — *Ausführung.* Man bringt 1—5 g Probe in den Destillierkolben eines einfachen Apparates zur Destillation im Wasserdampfstrom (Abb. im Orig.), fügt einige Tropfen Methylorangelösung und etwa 20 ml Wasser zu und beginnt mit dem Durchleiten von Wasserdampf. Sowie die Luft ausgetrieben ist, läßt man 1 m Schwefelsäure zur Probe bis zum Farbumschlag des Indicators zutropfen und destilliert in die mit 20 ml 0,01 n NaOH-Lösung beschickte Vorlage, bis sich darin 70—75 Destillat angesammelt haben. Man füllt dann mit Wasser auf 100 ml auf und benutzt einen 2—30 μg CN^- entsprechenden aliquoten Teil zur photometrischen Bestimmung nach[2]. Die Eichkurve wird mit NaCN-Lösungen von bekanntem Gehalt aufgestellt. Z. Stejskal

Zur Jodidbestimmung im Harn haben H. L. Helwig, W. A. Reilly und J. N. Castle[1] ein Verfahren entwickelt, bei dem das Jodid zunächst angereichert wird, indem man es durch Austauschreaktion mit AgCl auf einer AgCl-Cellulosesäule bindet. Das Jod wird anschließend mit Brom in Form von Jodat eluiert, im Eluat mit Alkalijodid umgesetzt und als freies Jod colorimetrisch bestimmt. Zur Korrektur der bei den verschiedenen Operationen auftretenden Verluste (die einige Prozente betragen) dienen Radioaktivitätsmessungen von zugesetztem ^{131}J. Eine Einzelbestimmung dauert 2 Std, es können aber 4—6 Bestimmungen in 3 Std ausgeführt werden. — *Ausführung.* 200 ml Harn (es können 50—2000 ml benutzt werden) versetzt man mit soviel trägerfreiem radioaktivem Jod, das mit Natriumsulfit reduziert worden ist, daß etwa 500 Impulse/sec/ml resultieren. Sie werden genau gezählt. Die 200 ml Harn werden mit Schwefelsäure auf p_H 5 gebracht und schnell auf 95° C erhitzt. Man filtriert (etwa vorhandenes Eiweiß wird dabei entfernt), kühlt und setzt unter Rühren 0,5 ml konz. Schwefelsäure zu, so daß der Harn 0,1 n an Schwefelsäure ist. Durch einen mit Schlauch versehenen Trichter gibt man den Harn auf die Silberchlorid-Cellulosesäule (s. unten) und verwirft den Durchfluß, der weniger als 10% der Jodradioaktivität enthält. Man wäscht mit 200 ml 0,1 n Schwefelsäure und verwirft die Waschflüssigkeit ebenfalls. Das Jod wird mit 15 ml einer gesättigten Lösung von jodfreiem Brom in 0,05 n Schwefelsäure eluiert. (Um das käufliche Brom von Jodspuren zu befreien, destilliert man es unter Kupfersulfatlösung.) Das Eluat wird zur Vertreibung des Bromüberschusses 1 Std im Wasserbad auf 70° C erhitzt. In die weiter erwärmte Lösung gibt man 1 Tropfen gesättigte wäßrige Kaliumpermanganatlösung, um etwa vorhandene reduzierende Substanzen zu oxydieren. Nach 10 min beseitigt man die höheren Manganoxyde mit 1—2 Tropfen 10%iger Natriumnitritlösung und zerstört nach weiteren 10 min die Nitritreste mit Harnstoff. Während der ganzen Zeit wird weiter erwärmt und verdampftes Wasser ersetzt. Man bringt dann mit Natriumhydrogencarbonat auf p_H 2,8 und versetzt mit 1 ml Citrat-Phosphatpuffer (16,83 ml 0,1 n Citronensäure + 3,17 ml 0,2 m Dinatriumhydrogenphosphatlösung). Einen aliquoten Teil gibt man in eine Photometerküvette, stellt die Extinktion bei 352 mμ auf Null ein, setzt 1 Tropfen 50%ige Natrium- oder Kaliumjodidlösung zu, mischt und mißt die Extinktion des freigewordenen Jods. Die Jodwerte entnimmt man einer mit Jodstandardlösungen angefertigten Eichkurve. 1 ml des Reaktionsgemisches gibt man in eine Küvette und bestimmt die Radioaktivität. Berechnung: Harnjodgehalt in μg/ml = μg Jod/ml in der Küvette $\times F$; F = ^{131}J-Impulse · sec^{-1} · ml^{-1} im Harn ^{131}J-Impulse · sec^{-1} · ml^{-1} in der Küvette. Der Fehler beträgt $\pm 5\%$. — *Silberchlorid-Cellulosesäule.* Ein 1 cm weites und 10 cm langes Glasrohr, das eine kurze Spitze mit 1 mm Lumen trägt, wird von der Spitze aufwärts folgendermaßen

[1] J. Lab. clin. Med. **49**, 490—493 (1957). Radioisotope Service, San Francisco, Cal.

gefüllt: 1 cm Glaswolle, 0,5 cm in 0,1 n Schwefelsäure suspendiertes Cellulosepulver, 33 ml einer Suspension von Silberchlorid-Cellulosepulver [1 g Cellulosepulver (Whatman B) in 100 ml Wasser + 0,1 g Silbernitrat p.a. + 0,05 ml konz. Schwefelsäure + ein geringer Überschuß von Natriumchlorid, den man unter Rühren zusetzt], 0,5 cm Cellulosepulver und 1 cm Glaswolle. Die Säule wird mit 100 ml 0,1 n Schwefelsäure gewaschen, um den Chloridüberschuß und kolloidales Silberchlorid zu entfernen. E. Müller, Würzburg

Über die verschiedenen Möglichkeiten zur Bestimmung des Alkohols im Blut berichtet D. Monnier[1]. Neben den Methoden, die auf der Oxydation des Alkohols mit Dichromat beruhen[2,3] und titrimetrisch ausgeführt werden können, werden diejenigen angegeben, nach denen der Dichromatüberschuß spektrophotometrisch[4] oder polarographisch[5] bestimmt werden kann. — Im Genfer Laboratorium wird zunächst ein Test mit dem „Breathalyser" ausgeführt (Beschreibung des Gerätes im Original). Sofern in der Atemluft ein höherer Alkoholgehalt als 1‰ festgestellt wird, bestimmt man den Alkohol im Blut nach der Methode von Rochat[3] und nach derjenigen von Monnier u. Fasel[4]. Sofern kein Venenblut entnommen werden kann, empfiehlt Monnier mit 4—5 Tropfen Blut eine Mikrodestillation durchzuführen. (Genauigkeit 5%). J. Koch

Die offizielle französische Methode zur Blutalkoholbestimmung wird von L. Truffert[6] stark kritisiert. Sie ist veraltet und als Salpetersäure-Chromoxydation anfechtbar. Dem Untersucher soll es überlassen bleiben, zu entscheiden, welche Methode er für brauchbar hält. Außerdem sollten interessierte Wissenschaftler sich in einer Zusammenkunft über die geeignetste Methode beraten. E. Müller, Würzburg

Die Bestimmung des Gesamt-Oxalatgehaltes von Urin führen C. L. Yarbro und R. E. Simpson[7] mittels eines modifizierten Perforators durch (Abb. 1). Man bringt in *D* 25 ml Urin und 25 ml 2 n Salzsäure (*G*), mischt und erhitzt zur Hydrolyse der Oxalursäure 45 min auf dem siedenden Wasserbad. Nach dem Abkühlen überschichtet man die saure Flüssigkeit mit peroxydfreiem Äther (*F*) bis zum Überlauf (*E*), setzt den Trichter *C* ein und baut *D* in den Mantel *B* ein, nachdem man diesen mit 2—3 ml Wasser (*I*), 25—30 ml Äther (*H*) und einigen Siedesteinchen beschickt hat. Nach Aufsetzen des Rückflußkühlers *A* hält man den Äther mittels einer elektrischen Heizung 18 Std lang im Sieden, wodurch die gesamte Oxalsäure aus *G* extrahiert wird und durch den Überlauf *E* in *H* gelangt. Nun nimmt man *D* aus dem Außenbehälter *B*, spült seine Außenwand mit etwas Wasser in *B* und entfernt aus diesem den Äther durch Destillation. Schließlich überführt man den Inhalt

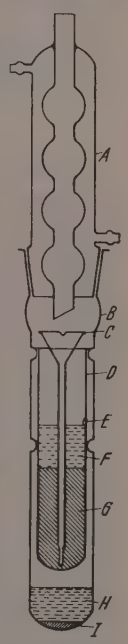


Abb. 1. Perforator nach Yarbro und Simpson

[1] Chimia (Zürich) **11**, 16—21 (1957). Ecole de Chimie, Genf.
[2] Nicloux: Ann. Méd. Leg. **16**, 113 (1936).
[3] Rochat, J.: Helv. chim. Acta **26**, 102, 819 (1946).
[4] Monnier, D., u. M. Fasel: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **47**, 141 (1956); vgl. diese Z. **155**, 397 (1957).
[5] Monnier, D., u. W. F. Rüedi: Helv. chim. Acta **38**, 402 (1955); vgl. diese Z. **149**, 225 (1956).
[6] Ann. Falsificat. Fraudes **50**, 59—64 (1957).
[7] J. Lab. clin. Med. **48**, 304—310 (1956). Univ. Chapel Hill, N. C. (USA).

von *I*, der nunmehr die gesamte Oxalsäure enthält, durch dreimaliges Waschen mit je 2 ml 95%igem Äthanol quantitativ in ein Zentrifugenglas von 50 ml Inhalt. Hier alkalisiert man die Lösung mit konz. Ammoniak (Bromthymolblau als Indicator) unter Durchblasen von Stickstoff, fügt 3 Tropfen gesättigte Calciumchloridlösung zu, bringt den Ansatz durch Zugabe von 1,5 ml Eisessig auf p_H 4,0—4,5 und versetzt zuletzt mit 2 ml alkoholischem Puffer (eine Mischung von 60 ml 95%igem Äthanol, 10 ml 2%iger Essigsäure und 20 ml Wasser bringt man durch tropfenweisen Zusatz von konz. Ammoniak auf p_H 4,0). Dann erhitzt man auf 80—90° C, läßt 3—6 Std absitzen, zentrifugiert 15 min lang mit 2000 U/min und entfernt die überstehende Flüssigkeit sorgfältig. Den Rückstand wäscht man 2mal mit je 2 ml alkoholischem Puffer, trocknet ihn 1 Std auf dem siedenden Wasserbad und löst ihn in 5 ml 1 n Schwefelsäure. Nach Zugabe von 0,5 ml 10%iger Mangansulfatlösung oxydiert man die Oxalsäure mit 5 ml 0,01 n Kaliumpermanganatlösung, fügt 0,5 ml 10%ige Kaliumjodidlösung zu und titriert das durch den Permanganatüberschuß ausgeschiedene Jod mit 0,01 n Thiosulfatlösung zurück.

K. Söllner

Eine verbesserte Ultramikromethode zur Harnstoffbestimmung im Serum teilen W. T. Caraway und H. Fanger[1] mit. Es handelt sich um eine Verbesserung der Methode der beiden Autoren[2]; die Verbesserung besteht darin, daß das Eiweiß nicht mit Wolframsäure sondern mit Trichloressigsäure gefällt wird und daß ein haltbares Reagens benutzt wird. — *Ausführung.* Man bringt 10 µl Serum in ein 1 ml-Zentrifugenglas und fügt 100 µl Wasser sowie 100 µl 10%ige Trichloressigsäurelösung (10 g Trichloressigsäure in Wasser gelöst auf 100 ml aufgefüllt, 2 bis 3 Monate haltbar) hinzu. Nach gutem Mischen zentrifugiert man und pipettiert 100 µl klaren Überstand in ein 7 × 70 mm Reagensglas. Dann setzt man 50 µl einer 1%igen Lösung von Diacetylmonoxim in 5%iger Essigsäure (in brauner Flasche bei Raumtemperatur haltbar) und 100 µl Arsen-Schwefelsäuremischung (s. unten) zu. Der gut gemischte Ansatz wird nach losem Verschluß genau 10 min im siedenden Wasserbad erwärmt. Nach 1—2 min langem Abkühlen im kalten Wasserbad auf etwa 25° C mischt man abermals und mißt innerhalb von 10 min die Extinktion bei 480 mµ mit einem Wasserblindwert als Kontrolle. Die Menge Harnstoff (oder Harnstoffstickstoff) in mg/100 ml entnimmt man aus einer Eichkurve, die mit Standardharnstofflösungen hergestellt wird. Die Standardkurve ist sigmaförmig, die Werte sind aber bis zu 50 mg Harnstoff/100 ml Serum reproduzierbar, und die Extinktion beträgt dann etwa 2,0. Bei höheren Werten benutzt man 50 µl Überstand und 50 µl Wasser. Es ist ratsam öfter Standardlösungen zu prüfen und die Methode gelegentlich mit einer Makromethode zu kontrollieren. - *Arsen-Schwefelsäuremischung.* Unter konstantem Kühlen und Mischen gibt man 100 ml konz. Schwefelsäure in 100 ml Wasser, kühlt auf 50° C ab, fügt 20 g Arsensäure (H_3AsO_4) hinzu, mischt gut bis zur Lösung, kühlt und hebt das haltbare Reagens in einer Glasstöpselflasche auf.

E. Müller, Würzburg

Aminosäuren. *Zur direkten Bestimmung der freien Aminosäuren* des Kartoffelsaftes empfehlen J. Herrmann und J. Raths[3] eine Modifikation der üblichen direkten photometrischen Auswertung transparent gemachter Papierchromatogramme[4]. Verff. verwenden für das auf- und absteigende Verfahren die Streifen-

[1] Amer. J. clin. Pathol. **26**, 1475—1476 (1956). Rhode Island Hospital, Providence, R. I. (USA).

[2] Caraway, W. T., and H. Fanger: Amer. J. clin. Pathol. **25**, 317 (1955).

[3] Pharmazie **11**, 582—591 (1956). Humboldt-Univ. Berlin.

[4] Grassmann, W., und K. Hannig: Klin. Wschr. **32**, 838 (1954); vgl. diese Z. **148**, 61 (1955/56).

chromatographie nach W. Matthias[1] für die je eine besondere Papierstreifenform angegeben wird. Dem Verwendungszweck entsprechend ist nicht an eine exakte Bestimmung der Aminosäuren gedacht. Durch Ermittlung eines „idealen" Extinktionswertes E_i bei Verwendung des Grünfilters VG4 von Schott & Gen. ist erreicht worden, daß bei Einsetzen von E_i das Flächenintegral eine lineare Funktion der Aminosäurekonzentration ist. Derselbe E_i-Wert gilt für mehrere Aminosäuren. Die photometrische Ausmessung erfolgt mit einem selbstgebauten Gerät, das abgebildet und beschrieben ist. Auf einer Walze werden Treppenkurven aufgezeichnet, bei denen die in Meßrichtung liegenden vorderen Ecken den Meßpunkten entsprechen. Die Verbindungslinie dieser Punkte ergibt die den Gaußschen Verteilungskurven mehr oder weniger ähnelnden Kurven. Die Auswertung geschieht im Vergleich mit Standardlösungen. Bei der *Bestimmung von Glutaminsäure, Asparaginsäure, Serin, Glycin, Threonin, Alanin, Leucin (Isoleucin), Phenylalanin und Valin im Kartoffelpreßsaft* liegt der mittlere Fehler des Mittelwertes meist unter 5%.

Nach Y. Bito[2] kann man durch Vergleich des Flecks einer Aminosäure unbekannter Konzentration mit Flecken verschiedener, bekannter Konzentrationen der gleichen Aminosäure diese im groben Verfahren mit $\pm$ 5% und im feineren mit $\pm$ 1,24% Fehler bestimmen. — *Ausführung.* Die 2,5 cm vom Ende aufgesetzten Tropfen sind 2,5 μl groß. Man läßt in n-Butanol/Essigsäure/Wasser (4:1:2) laufen, trocknet bei Raumtemperatur, besprüht sehr gleichmäßig ohne Überfeuchtung mit 0,2%iger Ninhydrinlösung und erwärmt nach ½—1 Std genau 2 min auf 136° C in waagerechter Lage im Trockenschrank. Zur Anwendung kommen in Doppelansätzen die unbekannte Lösung und Verdünnungen von 1:2 bis 1:8, sowie daneben laufend Standardlösung und deren 1:2 Verdünnung. Nach dem Anfärben wählt man die Verdünnung, die von den beiden Standardlösungen „eingegabelt" wird. Sind die Standardlösungen zu konzentriert, muß der Versuch mit größeren Verdünnungen wiederholt werden. Es wird ein zweites Doppelchromatogramm von der unbekannten Lösung und von 5 absteigenden 9:10-Verdünnungen der konzentrierteren von den „eingabelnden" Standardlösungen angesetzt. Die unbekannte Lösung wird dann wieder von 2 Standardverdünnungen eingegabelt. In einem dritten Chromatogramm laufen nochmals Doppelansätze von je 4 fallenden 9:10-Verdünnungen sowohl vom Unbekannten wie von der stärkeren eingabelnden Standardlösung. Man bestimmt für jeden Fleck das Produkt aus Fleckgröße und Verdünnung und errechnet Mittelwerte für die Standardlösungen und die unbekannten Lösungen. Der Gehalt der unbekannten Lösung an Aminosäure ist durch eine einfache Proportion zu ermitteln. Für die Anfärbung von Prolin benutzt man 0,2%ige Isatinlösung in n-Butanol mit 4% Essigsäure.

Über die Trennung nichtbasischer Aminosäuren auf Ionenaustauschersäulen berichten R. Müller und G. Krampitz[3]. Es handelt sich um das von S. Moore und W. H. Stein[4] angegebene Verfahren mit einigen Verbesserungen: die Salzsäurehydrolyse wird auf 30 Std verlängert, da 24 Std nicht genügen. Eine weitere Verlängerung auf 70 Std, die von einigen Autoren angegeben wird, bringt keine Änderung mehr. Für das Austauscherrohr werden unten und oben Normalschliffverbindungen vorgeschlagen, von denen die untere mit Fritte sich noch im Wärmemantel befindet, durch den vom Umlaufthermostaten her Wasser von konstanter Temperatur fließt. Der obere Rohraufsatz trägt einen Hahn und darunter einen

[1] Naturwissenschaften **41**, 17 (1954); vgl. diese Z. **143**, 287 (1954); **150**, 209 (1956).
[2] J. Biochemistry (Tokyo) **43**, 523—529 (1956). Univ. Osaka (Japan).
[3] Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **11**, 357—365 (1956). Univ. Bonn.
[4] J. biol. Chemistry **192**, 663 (1951); vgl. diese Z. **136**, 370 (1952).

seitlichen Ansatz zum Einleiten der Elutionsflüssigkeit. Das Rohr ist mit Dowex 50 X 12 (375 mesh) gefüllt. Arbeitstemperatur und p_H-Wert der Elutionsflüssigkeit ändern sich folgendermaßen mit den Fraktionen: 37,5° C, p_H 3,42 bis 280—290 ml Eluat; 50° C, p_H 4,25 bis 440—450 ml; 75° C, p_H 4,25 bis 500 ml; 25° C, p_H 6,7 bis 525 ml; 25° C, p_H 7,5 bis 600 ml. — Es werden die nicht basischen Aminosäuren von Rinderserumalbumin, Magermilchpulver und Gerste getrennt und bestimmt. Die Ergebnisse sind in Diagrammen und Tabellen zusammengestellt. Im Gerstehydrolysat werden α- und γ-Aminobuttersäure nachgewiesen, von denen aber nicht feststeht, ob es Sekundärprodukte sind. E. Müller, Würzburg

S. Gerlaxhe, J. Casimir und M. Renard[1] berichten über eine Verbesserung der früher angegebenen[2] Methode zur *papierchromatoelektrophoretischen Trennung von Aminosäuren*. Insbesondere wird festgestellt, daß die Chromatographie in mit Wasser äquilibriertem Butylformiat und Elektrolyse bei p_H 2,4 (Essigsäure)[2] durch Chromatographie in mit Phosphatpuffer (p_H 5,6) gesättigtem Phenol und anschließende Elektrolyse im gleichen Phosphatpuffer sehr verbessert wird, da dann auch Glutaminsäure und Threonin getrennt werden. Die R_f-Werte für 11 Aminosäuren für p_H 4,2 und 5,6 sowie für Ionenstärken zwischen 0,1 und 0,01 sind angegeben. K. Cruse

S. M. Šibalić und N. D. Radej[3] entwickeln ein *Verfahren zur quantitativen Bestimmung von 17 Aminosäuren in Proteinhydrolysaten*, das im wesentlichen auf der Trennung der Aminosäuren durch eindimensionale Papierchromatographie nach E. F. McFarren[4] bzw. F. G. Fischer und H. Dörfel[5] beruht. Die Bestimmungsfehler betragen etwa $\pm 5\%$. — Zur *Hydrolyse der Eiweißkörper* hält man 200 mg Rohprotein mit 800 ml 6 n Salzsäure 24 Std bei Siedetemperatur. Die Säure wird dann durch Destillation im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 50 ml Wasser versetzt. Man dampft neuerlich ab und wiederholt dies 2—3mal. Hierauf trocknet man im Vakuumtrockenschrank bei 50—60°C, fügt 10 ml 10%igen Isopropylalkohol zu und zentrifugiert. Zur Stickstoffbestimmung werden 2mal 2 ml der Lösung entnommen. Weitere Hydrolyseverfahren sind ebenfalls anwendbar[5,6]. Die Standardlösungen der Aminosäuren enthalten 6—33 mg der einzelnen Aminosäuren in 10 ml Isopropanol. Für die chromatographische Bestimmung eignen sich Whatman Nr. 1 und Schl. & Sch. Nr. 2043 am besten. Sie werden entsprechend gepuffert[4]. Die Chromatogramme werden mit Ninhydrin (0,5 g in 45 ml Aceton, 45 ml n-Propylalkohol, wechselnden Mengen Essigsäure und Wasser gelöst) besprüht. Reste des Lösungsmittels auf dem Papier werden durch vorherige Extraktion mit Aceton und Äther entfernt. Die Trennung der Aminosäuren geschieht im allgemeinen entsprechend den Angaben von McFarren[4]. So erfolgt die Trennung von *Asparaginsäure, Glutaminsäure, Serin, Glycin, Threonin und Alanin* mit Phenol bei p_H 12 (24 Std bei 20° C, besser 36 Std). Für die Trennung von *Cystin, Alanin, Tyrosin, Valin und Methionin* wird Phenol auf p_H 1 gepuffert. *Tyrosin, Valin und Methionin* können auch mit m-Kresol, gesättigt mit Puffer

[1] Bull. Soc. chim. Belgique **66**, 251—255 (1957). Inst. Agronom. de l'Etat, Gembloux (Belgien).

[2] Gerlaxhe, S., u. M. Renard: Ind. chim. belge **20**, III, 509 (1954).

[3] Glasn. Hig. Inst. (Beograd) **5**, 15—30 (1956) [Serbisch]. (Mit engl. Zus.fass.).

[4] McFarren, E. F., (u. J. A. Mills): Analyt. Chemistry **23**, 168 (1951); **24**, 650 (1952); vgl. diese Z. **136**, 363 (1952).

[5] Biochem. Z. **324**, 544 (1953).

[6] Nehring, K., u. E. Schwerdtfeger: Pharmazie **9**, 913 (1954); vgl. diese Z. **148**, 235 (1955/56).

p_H 8,4 getrennt werden (24—36 Std). Bei der Trennung von *Lysin* und *Arginin* dient 2,4- oder 2,6-Lutidin als Lösungsmittel, das ebenso wie das Papier auf p_H 6,2 gepuffert wird (40 Std). Zur Abtrennung von *Phenylalanin* verwendet man o-Kresol auf p_H 6,2 gepuffert (24 Std). Bei der Trennung von *Leucin* und *Isoleucin* verwenden Verff. an Stelle von n-Butanol-Benzylalkohol und Puffer 8,4 (McFarren) ein Gemisch von Isobutanol-Benzylalkohol-Amylalkohol, gesättigt mit Puffer p_H 9,0 und erzielen damit bessere Trennung. Die Trennung von *Histidin*, *Lysin*, *Arginin*, *Cystin* und *Prolin* wird mit dem Lösungsmittelgemisch sek. Butanol-Essigsäure-Wasser (120 : 15 : 25) ohne Pufferung auf Schl. & Sch.-Papier in 64 Std. durchgeführt. — *Tryptophan* wird in Collidinlösung mit Pufferlösung p_H 9 (je 1 Volum beider Lösungen) abgetrennt. — Für alle diese Trennungen werden genauere Einzelheiten angegeben, 6 Abbildungen erläutern die Ergebnisse.

A. v. Wilpert

Zur Bestimmung von Histidin, Tyrosin, Methionin und Arginin in Proteinhydrolysaten geben H. Fraenkel-Conrat und B. Singer[1] ein neues Verfahren an, das auf papierchromatographischer Trennung der Hydrolysenprodukte, Elution der durch die entsprechenden Verbindungen als Testsubstanzen markierten Bezirke und spektrophotometrischer Auswertung der Eluate mit speziellen Reaktionen beruht. — *Ausführung.* 2—5 mg Eiweiß werden mit 1—2 ml konstant siedender, 2mal destillierter Salzsäure in evakuierten, zugeschmolzenen Röhrchen 16 Std bei 108° C hydrolisyert. Nach Abdampfen der Salzsäure und abermaligem Abdampfen des zur Lösung des Rückstandes benutzten Wassers löst man in der 50fachen Menge Wasser (0,20 ml für eine 4,0 mg Probe). In Strichen von etwa 2,5 cm trägt man 25 und 50 μl Proben (0,5—1 mg) auf Whatman Papier Nr. 1 auf. 0,01—0,2 μ Mole Histidin (Hi), Arginin (Arg) oder Tyrosin (Tyr) und 0,1—1 μ Mole Methionin (Meth) genügen für die Nachweise. Die Chromatogramme werden mit der oberen Phase von Butanol/Essigsäure/Wasser (40:10:50) entwickelt. Man schneidet den Bogen in den Proben zugeordnete Streifen und macht die Testsubstanzen sichtbar: Hi (R_f 0,11) und Tyr (R_f 0,38) mit diazotierter Sulfanilsäure (zu 10 ml 1%iger Sulfanilsäurelösung in 1,2 n Salzsäure gibt man 9 ml 5%ige Natriumnitritlösung bei 0° C. Kurz vor Gebrauch fügt man 20 ml 10%ige Natriumcarbonatlösung hinzu), Meth (R_f 0,44) mit Jodazid-Reagens nach J. Sjöquist[2] und Arg (R_f 0,10) mit Sakaguchis Reagens. Die Streifen für Hi und Tyr bedampft man 5 min im Autoklaven. Die ausgeschnittenen Probeareale eluiert man am besten nach der Capillarmethode[3] mit 0,4—0,5 ml Wasser. Zur Bestimmung von Hi verdünnt man das Hi-Eluat auf 2 ml, die 1—20 μg Hi enthalten, versetzt mit je 0,2 ml der obigen Sulfanilsäure- und Nitritlösung, läßt 30 min bei Raumtemperatur stehen, gibt 2,6 ml 4,6%ige Natriumcarbonatlösung zu und mißt nach 5 min bei 510 mμ. Zur Tyr-Bestimmung versetzt man 2 ml Eluat (2—50 μg Tyr) mit 2 ml 15%iger Natriumcarbonatlösung und 1 ml 1:1 verdünntem, käuflichem Folin-Phenolreagens. Nach 40 min mißt man bei 750 mμ. Zur Bestimmung von Meth werden 0,5 ml Eluat nach T. E. McCarthy und M. X. Sullivan[4] in modifizierter Form behandelt: Man versetzt mit je 0,05 ml Natronlauge und Glycinlösung, 0,025 ml Nitroprussidlösung und 0,25 ml Salzsäure-Phosphorsäuremischung. In Mikroküvetten wird bei 520 mμ gemessen. Arg (3 bis 60 μg) bestimmt man nach Rosenberg u. Mitarb.[5], indem man das Volumen ein-

[1] Arch. Biochem. Biophysics **65**, 296—301 (1956). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

[2] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **7**, 447 (1953); vgl. diese Z. **143**, 40 (1954).

[3] Sanger, F., u. H. Tuppy: Biochemic. J. **49**, 463 (1951).

[4] J. biol. Chemistry **141**, 871 (1941).

[5] Rosenberg, H., A. H. Ennor u. J. F. Morrison: Biochemic. J. **63**, 153 (1956); vgl. diese Z. **156**, 312 (1957).

schließlich von 1 ml n-Propanol (um das Reagens in Lösung zu halten) auf 4 ml reduziert und bei 525 mμ mißt. Mit den unbekannten Proben laufen Standardlösungen der 4 Aminosäuren in entsprechenden und verschiedenen Konzentrationen mit, die die Berechnung ermöglichen. Bei den Standardlösungen findet man Meth zu 87%, die anderen Aminosäuren zu 95% wieder. Diese Werte benutzt man zur Standardkorrektur. Zum Hydrolysat zugesetzte Aminosäuren werden zu 100 ± 5% wieder gefunden; die Reproduzierbarkeit beträgt ± 4%.

Über die Isolierung von Prolin aus Eiweißhydrolysaten mit *2,4,6-Trinitrobenzoesäure* berichten J. Kapfhammer und G. Mohn[1]. Am besten geht man von Eiweißkörpern aus, die wenig Hydroxyprolin und basische Aminosäuren enthalten, wie Gliadin, Gluten oder vielleicht auch Casein. Verff. schildern die Prolingewinnung aus Giladin sehr eingehend, so daß man Einzelheiten dem Original entnehmen mag. Die Schwierigkeit besteht darin, eine gute Ausbeute (68%) an Prolin und eine papierchromatographisch reine Substanz zu erhalten. (Verunreinigung < 0,2%). Die wesentlichen Schritte der Isolierung sind folgende: Das Eiweiß wird mit 33,6%iger Schwefelsäure 9 Std bei 133° C und 2 atü hydrolysiert. Nach Beseitigung des Schwefelsäureüberschusses als Bariumsulfat fällt man bei kongosaurer Reaktion mit Reineckesalz und wiederholt die Fällung nach 30stündigem Kühlschrankaufenthalt noch 2mal in den Mutterlaugen, das letzte Mal nach Einengen der Mutterlauge im Vakuum. Die Fällungen enthalten Prolin weitgehend angereichert; sie werden mit Dimethylanilin nach H. D. Dakin[2] umgesetzt. Es folgt eine mehrfache Fraktionierung mit wasserfreiem Äthanol und dann wiederholte Fällung mit 2,4,6-Trinitrobenzoesäure nach J. Kapfhammer und R. Eck[3], deren Salze hier nicht mehr wie früher[3] in Dioxan sondern durch Erhitzen in Toluol zerlegt werden. Der Gehalt der einzelnen Fraktionen an Prolin und den anderen Hydrolyseprodukten wird papierchromatographisch verfolgt. E. Müller, Würzburg

Zur quantitativen Bestimmung von Arginin in Eiweißkörpern empfiehlt R. Rendi[4] die von V. R. Wheatley[5] zur Harnstoffbestimmung im Blut angegebene colorimetrische Methode. Arginin reagiert mit Diacetylmonoxim unter Bildung einer gelben Farbverbindung. Um die Farbintensität zu vertiefen, gibt man zur Lösung noch N-Phenylanthranilsäure. Man erhält eine rote Farbsalzlösung, deren Absorptionsmaximum bei 550 mμ liegt. Die Reaktion wird bei hoher Schwefelsäurekonzentration (zum Schluß 53%) durchgeführt. Nucleinsäuren und Polysaccharide, die bei der Fällung der Proteine mit abgeschieden werden, stören nicht. Das Verfahren eignet sich dagegen nicht zur Bestimmung von freiem Arginin in harnstoffhaltigen Organflüssigkeiten. K. Machner

Eine polarimetrische Bestimmungsmethode von Cystein nach Oxydation zu Cystin gibt R. Willemart[6] an. — *Ausführung.* Man löst 0,250 g Cysteinhydrochlorid(I) in 2,5 ml 1 n Salzsäure. Dann oxydiert man tropfenweise mit einer 0,1 n Jodlösung bis eine gelbe Färbung bestehen bleibt und bringt diese mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung gerade wieder zum Verschwinden. Nach Auffüllen auf 25 ml mit 1 n Salzsäure mißt man die Drehung im 2 dm-Rohr mit dem Licht der Na_D-Linie; die Drehung von —3,4° entspricht $[\alpha]_D$ = —171° (Temperatur nicht angegeben Ref.) für Cystindihydrochlorid. E. Müller, Würzburg

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 76—83 (1956). Univ. Freiburg.

[2] Privatmitteilung, vgl. Bergmann, M.: J. biol. Chemistry **110**, 472 (1935).

[3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **295**, 413 (1953).

[4] Experientia (Basel) **13**, 21—22 (1957). Inst. f. allgem. Physiologie, Rom (Italien).

[5] Biochemic. J. **43**, 420 (1948).

[6] Ann. pharmac. franç. **14**, 718—719 (1956). Serv. Rech. Roussel-Uclaf, Paris-Romainville (Frankreich).

Eine Methode zur spektrophotometrischen Bestimmung von Trypsin und Trypsininhibitoren geben M. B. Rhodes, R. M. Hill und R. E. Feeney[1] an. Die Methode beruht auf der Bestimmung der prozentualen Lichtdurchlässigkeit eines Indicators, die eine lineare Funktion der während der Hydrolyse durch das Ferment (Trypsin) aus dem Substrat frei werdenden Säure ist. Kann man ein direkt schreibendes Gerät benutzen, erhält man die Aktivitätskurve des Fermentes. — *Ausführung.* 1 ml Enzymlösung, die 1—15 μg Ferment enthält, gibt man in die Photometerküvette und fügt als Substrat-Puffer-Indicatorlösung 2 ml einer Mischung aus 0,02 m p-Toluolsulfonylargininmethylester, 0,015 m Trishydroxymethylaminomethan, mit Salzsäure auf p_H 8,2 eingestellt, und 0,015% m-Nitrophenol hinzu. (Zur besseren Durchmischung bläst man die Substrat-Puffer-Indicatorlösung mit einer feinen Pipette ein.) 2—3 sec nach diesem Zusatz beginnt man bei 395 mμ 60 sec lang zu messen. In diesem Zeitintervall sind die Kurven für 1,5—15 μg Trypsin linear. Von Trypsininhibitoren sind Ovomucoid, Sojabohneninhibitor und rohes Eiereiweiß untersucht worden. Man mischt 3—15 μg Inhibitor mit 15 μg Trypsin und verfährt bei verschiedenen Inhibitorkonzentrationen wie bei Trypsin. Verlängert man den linearen Teil der Kurve bis zum Schnittpunkt mit der Abszisse (Inhibitor in μg), so erhält man die theoretische Menge Inhibitor, die 15 μg Trypsin vollständig hemmt. Das Gewichtsverhältnis Sojabohneninhibitor zu Trypsin beträgt 0,96, das von Ovomucoid zu Trypsin 1,16. Die Genauigkeit der Methode liegt bei $\pm$ 5%. Auf der Tüpfelplatte kann man mit denselben Reagentien eine Näherungsbestimmung durchführen: Man benutzt lediglich statt m-Nitrophenol Phenolrot als Indicator. Die Fermentaktivität ist proportional der Umschlagszeit von Rot zu Gelb. Die Standardkurven werden mit 0,01—0,1 ml einer Lösung von 150 μg Trypsin/ml und 0,2 ml Substrat-Puffer-Indicatorlösung, die statt m-Nitrophenol 0,002% Phenolrot enthält, hergestellt. Auch potentiometrische Titration im Stickstoffstrom ist möglich. Die Ergebnisse der beiden ersten Methoden stimmen genügend genau mit denen der letzten konventionellen überein. E. Müller, Würzburg

Bei der Elektrophorese von Lipoproteidfraktionen auf Papier ist die Bestimmung der Neutralfette nicht exakt möglich, da diese „Schwänze" bilden. G. Schettler, F. Dietrich, M. Eggstein und H. Jobst[2] verwandten daher gereinigte Kartoffelstärke als Medium. Unter streng definierten Bedingungen gelangten sie zu reproduzierbaren elektrophoretischen Auftrennungen von Serumlipoproteiden. Nach Beendigung der Elektrophorese ($\sim$ 20 Std) werden trockene Filtrierpapierstreifen über den feuchten Stärkeblock abgerollt, wieder getrocknet und gefärbt. Nach diesem Abbild wird der Stärkeblock in einzelne, die Eiweißfraktionen enthaltende Stücke zerteilt. Die Lipoide werden im Soxhlet extrahiert. Bestimmt werden *Cholesterin, Lipoidphosphor und veresterte Fettsäuren.* — Bei nachgewiesenen Coronarinfarkten und bei stenosierenden Arterienprozessen auf arteriosklerotischer Grundlage werden Veränderungen der Serumlipoproteide gefunden. Der diagnostische Wert wird diskutiert. Eva Neuhaus

Ein neues Biuretreagens zur Eiweißbestimmung in Cerebrospinalflüssigkeit geben H. L. Rosenthal und H. I. Cundiff[3] an. Die Verbesserung besteht in einem optimalen Zusatz von *Dinatriumäthylendiamintetraacetat* (ÄDTA), das sowohl die Kupferverbindung stabilisiert als auch die Trübung durch Ca (oder Mg) bei alkalischer Reaktion infolge Komplexbildung verhindert. — *Reagens.* Man löst 1,50 g $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ in etwa 500 ml Wasser, fügt 6,0 g ÄDTA und 1,0 g Kaliumjodid hinzu und bringt alles in Lösung. Nach Zusatz von 300 ml 2,50 n Natronlauge mischt man

[1] Analyt. Chemistry **29**, 376—378 (1957). Univ. Lincoln, Neb. (USA).
[2] Klin. Wschr. **1957**, 268—275. Univ. Marburg/Lahn.
[3] Clin. Chemistry **2**, 394—400 (1956).

gut und füllt auf 1 l auf. Das Reagens ist in Polyäthylenflaschen bei Raumtemperatur haltbar. Die Ansätze sollen nicht mehr als 300 mg Protein/100 ml enthalten, dann stimmen die Werte gut mit Kjeldahl-Mikrowerten überein (Verhältnis 89:90). Die Ausführung geschieht in üblicher Weise nach H. J. Fister[1].

E. Müller, Würzburg

Zur Agarelektrophorese von Proteinen auf Cellophan- und Polyester-Filmen verwendet K. V. Giri[2] die folgende *Methodik*. Zur Herstellung der Agarschicht wird eine 2%ige Agarlösung mit dem gleichen Volumen Veronal-Acetatpufferlösung bei 50—60° C gemischt. Die letzte wird als Stammlösung (29,43 g Veronalnatrium, 19,43 g Natriumacetat-Trihydrat und 180 ml 0,1 n Salzsäure je 3 Liter) vorrätig gehalten (p_H 8,6). Der Film wird auf einer Glasplatte $5{,}2 \times 30$ cm gegossen, auf der zuvor eine Cellophan- oder Polyester-Folie (2,2 bzw. $0{,}6 \cdot 10^{-3}$ cm) feucht aufgelegt und mit einem 1,2 mm starken Perspexrahmen bedeckt ist. Whatman-Papierstreifen (Nr. 3) werden als Zu- und Ableitung mit eingegossen. Der gegossene und bei Raumtemperatur erstarrte Film (10 ml Lösung) wird mit einem zweiten Perspexrahmen und darüber mit einer zweiten Glasplatte bedeckt. Scharfe Zonenbildung wird erreicht, wenn die Probe (10 μl) auf einem Whatman-Nr. 1-Streifen $0{,}2 \times 2$ cm aufgetragen auf die Agarschicht aufgelegt wird, so daß wenigstens 2 mm als Randzonen frei bleiben. Dann wird 3 Std mit 300 V entsprechend 8—9,5 mA elektrolysiert (10 mA Stromstärke sollen nicht überschritten werden). Nach Entfernen der Deckplatte und des oberen Perspexrahmens sowie sämtlicher Papierstreifen wird über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Zum Färben wird die Platte dann 30 min in 1 Liter Amidoschwarz 10 B-Lösung (5 g in 1 Liter Methanol-Eisessig-Wassergemisch 4 : 1 : 5) gehalten, 5 min in bereits verwendetem Methanol-Eisessig 9 : 1 nachgewaschen und schließlich ebenso im frischen Gemisch. Die Agarschicht kann dann mit dem Film abgenommen werden. Sie läßt nach abermaligem Waschen für 30—45 min die blauen Proteinzonen in sonst farbstofffreier Schicht einwandfrei erkennen. Werden Polyesterfolien verwendet, dann kann die letzte Waschung auf 3—4 min reduziert werden. Nach dem Ausschneiden der Zonen kann mit 0,05 n Natronlauge extrahiert und analysiert werden. Die Folien können zuvor entfernt und für weitere Trennungen verwendet werden. Wegen der geringen Absorption der Folien und des Agarfilms können nach dieser Methode vorteilhaft Analysen im UV-Licht oder auch von radioaktiven Substanzen vorgenommen werden.

K. Cruse

Über die klinische Anwendung der Papierelektrophorese von Proteinen haben F. W. Sunderman, jr. und F. W. Sunderman[3] einen überaus umfassenden Bericht vorgelegt. Die Ergebnisse der Untersuchung von über 1000 Sera, übersichtlich nach 21 Krankheitskategorien geordnet, werden erörtert. Sämtliche Analysen sind nach der modifizierten Methode von W. Grassmann und K. Hannig[4] auf Whatman-Papier Nr. 1 mit 15 μl Serum in 0,65 m Veronal-Pufferlösung von p_H 8,6 bei Raumtemperatur ausgeführt worden. Es wird horizontal in der Thomas-Kammer 14 Std mit 75 V elektrolysiert. Die sofort getrockneten Streifen werden mit Amidoschwarz 10 B gefärbt, es wird mit Methanol-Eisessig (9:1) gewaschen, mit α-Bromnaphthalin in Paraffinöl (Brechungsindex der Lösung 1,51) transparent gemacht und mit dem

[1] Manual of Standardized Procedures for Spectrophotometric Chemistry. Easton, Standard Scientific Supply Corporation 1950.

[2] J. Lab. clin. Med. **48**, 775—778 (1956). Indian Inst. Sci., Bangalore (Indien).

[3] Amer. J. clin. Pathol. **27**, 125—158 (1957). Jefferson Med. College, Philadelphia, Pa. (USA).

[4] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952); vgl. diese Z. **140**, 293 (1953) u. Klin. Wschr. **1954**, 838, vgl. diese Z. **148**, 61 (1955/56).

Elphor-Densitometer analysiert. Die angenäherten Gauß-Kurven werden planimetriert. Es wird auf den nach G. R. KINGSLEY[1] mit Biuret bestimmten Gesamtproteingehalt bezogen. Vergleichsanalysen bei Färben mit Bronphenolblau und Analyse des nicht transparenten Streifens im Analytrol-Densitometer führen zu abweichenden Resultaten. Es werden um durchschnittlich 13,3% höhere Albuminwerte und um 2—6% niedrigere Globulinwerte erhalten. K. CRUSE

Über die Untersuchung des Urins auf Eiweiß bei Verabreichung von D 860, eines neuen peroralen Antidiabeticums („Rastinon" Farbwerke Höchst)[2] berichtet TH. DORFMÜLLER[3]. Bei der Sulfosalicyl- und Pikrinsäure-(Essbach-)Methode wird durch das Ausscheidungsprodukt des D 860, das nach Erhöhung der Acidität des Harns ausfällt, ein Eiweißgehalt vorgetäuscht. Es wird deshalb vor der eigentlichen Prüfung auf Eiweiß mit Salzsäure gefällt. — *Ausführung. a) Sulfosalicylsäure-Methode.* 6 ml Urin werden mit 0,6 ml konz. Salzsäure angesäuert (p_H 2). Nach 10 min wird filtriert und das Filtrat mit einer Mischung aus je 5 ml Äther oder Essigäther und n-Butylalkohol geschüttelt. Von der wäßrigen Schicht bringt man je 2 ml in 2 Reagensgläser. Die eine Probe wird wie üblich mit Sulfosalicylsäure versetzt, die andere dient als Blindprobe. *b) Essbach-Methode.* 30 ml Urin säuert man mit 3 ml konz. Salzsäure an (p_H 2). Man filtriert nach 10 min und schüttelt das Filtrat mit einem Gemisch aus je 30 ml Äther oder Essigäther und n-Butylalkohol. Je 10 ml von der wäßrigen Schicht gibt man in 2 Essbach-Röhrchen. Die eine Probe wird wie üblich mit Essbach-Reagens (Pikrinsäure) behandelt, die andere erhält als Blindprobe an Stelle von Reagens die gleiche Menge Wasser. Für genauere Eiweißbestimmungen multipliziert man mit dem Verdünnungsfaktor 1,1. — Niederschläge, die mit anderen Eiweiß-Fällungsmitteln wie Ammoniumsulfat entstehen, gehen auf einen unspezifischen Aussalzeffekt zurück und lösen sich in Alkohol wieder auf.
MARGOT ZIMMERMANN

Bei der elektrochromatographischen Untersuchung der löslichen Proteine im Gewebe des Zentralnervensystems haben R. CARAVAGLIOS und P. CHIAVERINI[4] folgende *Methode* verwendet. Das auf Trockeneis gefrorene Material (Gehirn und cerebellum von *Albinoratten*) wird bei Eiswassertemperatur mit 0,25 m Glucoselösung (5 ml je Gramm Gewebe) homogenisiert und 1 Std zentrifugiert (25000 U/min). Die klare opalisierende Lösung wird 12 Std bei 2° C unter Rühren gegen destilliertes Wasser dialysiert. Schließlich wird abermals 1 Std zentrifugiert und gekühlt getrocknet. Das Material wird in Borsäure-Natriumsulfat-Natronlauge-Pufferlösung (p_H 8,6, Ionenstärke 0,06) gelöst, so daß eine 10%ige Lösung vorliegt. Nach W. GRASSMANN, K. HANNIG und M. KNEDEL[5] wird 4—12 Std bei 6—8 V/cm elektrolysiert, bei 120° C getrocknet und mit Amidoschwarz 10 B gefärbt. Die Fraktionen werden ausgeschnitten und mit 5 ml 5%iger Phenollösung eluiert. Zur Analyse wird bei 640 mμ photometriert. Es werden sieben Fraktionen ermittelt, die sich von Pherogrammen von Leber und Muskeln unterscheiden. K. CRUSE

Eine Methode zur Bestimmung von Ascorbinsäure bzw. Adrenalin und eine zur Bestimmung von Ascorbinsäure in Rattennebennieren geben J. BRÜGGEMANN, H. KARG und O. KÄPPELER[6] an. Es handelt sich um eine Modifikation der von

[1] J. Lab. clin. Med. **27**, 840 (1942).

[2] DORFMÜLLER, TH.: Das Ärztliche Laboratorium **3**, 8 (1957); vgl. diese Z. **159**, 381 (1958).

[3] Das Ärztliche Laboratorium **2**, 264—265 (1956). Westkrankenhaus Augsburg.

[4] Experientia (Basel) **12**, 303—304 (1956). Universität Pisa (Italien).

[5] Dtsch. med. Wschr. **76**, 333 (1951).

[6] Vitamine u. Hormone **7**, 200—211 (1956). Univ. München.

K. H. Meyer, C. H. Haselbach und R. A. Boissonnas[1] mitgeteilten Methode, bei der die Versuchsbedingungen so gewählt wurden, daß beide Wirkstoffe bestimmt werden können und um eine Verbesserung der älteren „Kohle"-Methode von J. H. Roe und C. A. Kuether[2], mit der Ascorbinsäure bestimmt wird. — *Ausführung. „Celite"-Verfahren.* Man verfährt nach der ursprünglichen Vorschrift[2], nur mit den Ausnahmen, daß man gleichzeitig zwei Proben (I u. II) durchführt, von denen II *nicht* im siedenden Wasserbad erhitzt wird, daß man das Anilin schon nach 5—10 sec zusetzt und daß man die Messung bei 530 statt 540 mμ vornimmt. Der Blindwert wird aus dem gleichen Ansatz ohne Drüse ermittelt. Dann ist I gegen Blindwert = Ascorbinsäure + Adrenalin; II gegen Blindwert = Adrenalin, die Differenz = Ascorbinsäure kann errechnet, oder durch Messen von I gegen II ermittelt werden. Die Genauigkeit ist ≒ 1% für Ascorbinsäure- bzw. Adrenalinwerte bis zu 100 μg bezogen auf 5 ml Ansatz. — *„Kohle"-Verfahren.* Die gewogene Nebenniere zerreibt man mit einem Glasstab unter Zusatz von etwas Quarzsand in 5 ml 4%iger Trichloressigsäure, setzt 0,5 g Aktivkohle p. a. (Merck) zu, rührt noch 3—4 min und filtriert durch Glasfritte G-3. Vom Filtrat kommen 3 ml in ein weites Reagensglas, werden mit einem Tropfen einer Lösung von 10 g Thioharnstoff in 100 ml 50%igem Äthanol (2 Monate haltbar, muß Permanganat reduzieren) versetzt, geschüttelt, mit 1 ml Dinitrophenylhydrazinlösung[2] versetzt, geschüttelt, 5 min (± 5 sec) in siedendem Wasserbad erhitzt und anschließend in kaltem Wasserbad gekühlt. Hier setzt man sofort 5 ml 70%ige Schwefelsäure zu, schüttelt kräftig und mißt nach Abkühlung (etwa 10 min) in der 2 cm-Küvette die Extinktion bei 530 mμ gegen den Blindwert, der analog ermittelt wird.

H. Karg[3] *beschreibt eine Anwendung der vorstehenden Methode zur colorimetrischen Bestimmung von Adrenalin und Vitamin C in der Nebenniere nach Insulingaben.* 90—120 g schwere Ratten erhalten teils nur Insulin (0,005—10 IE) oder mit Glucose (600 mg/60 min) oder mit Adrenalin(A) oder mit Noradrenalin (NA) (beide 400 μg), teils 400 μg A, 400 μg NA oder 10 E ACTH allein. Der Gehalt der Nebennieren an Brenzcatechinaminen und Vitamin C wird dann nach verschiedenen Zeitintervallen mit der Methode von J. Brüggemann, H. Karg und O. Käppeler[4] ermittelt. Dies Verfahren beruht darauf, daß sowohl A + NA als auch Vitamin C, aber unter anderen Versuchsbedingungen, mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin einen Farbkomplex bilden, der sich bei 520 mμ auswerten läßt. Die Ergebnisse sind in Tabellen und Kurven zusammengestellt und werden diskutiert. E. Müller, Würzburg

Für eine mikro-formaldehydogene Methode zur Analyse von chromatographischen Fraktionen von Nebennierensteroiden verwenden A. M. Bongiovanni und W. R. Eberlein[5] neuerdings Chromotropsäure im Reaktionsgefäß. Die Destillation oder Diffusion fällt damit weg und wird durch eine spezifische Farbentwicklung in der Reaktionslösung ersetzt. Die neue Methode ist nicht geeignet zur Bestimmung von Corticoiden in Rohextrakten. Dagegen bringt sie große Vorteile bei der Steroid-Reihenbestimmung in den Fraktionen einer Säulenchromatographie. Verff. fanden auf diese Weise ein neues Steroid (Pregnan-3a, 17a, 20 [?], 21-tetrol) im Chromatogramm eines Harnextraktes. — *Ausführung.* Man löst 2—20 μg der trockenen Steroidprobe im Reagensglas (1,5×15 cm) in 0,1 ml Eisessig und behandelt eine Steroid-Standardprobe sowie eine Leerprobe auf gleiche Weise. In jedes Glas kom-

[1] Helv. chim. Acta **35**, 1781 (1952); vgl. diese Z. **140**, 400 (1953).

[2] J. biol. Chemistry **147**, 399 (1943).

[3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **304**, 148—156 (1956). Univ. München.

[4] Vitamine u. Hormone **7**, 200 (1956); vgl. das vorstehende Referat.

[5] J. Lab. clin. Med. **48**, 320—323 (1956). Childrens Hosp., Univ. Philadelphia, Pa. (USA).

men nun 0,4 ml 0,001 m Perjodatreagens (23 mg KJO_4 in 100 ml 0,3n H_2SO_4); man läßt 45 min bei Raumtemperatur stehen, versetzt mit genau 0,1 ml einer 10%igen wäßrigen Natriumhydrogensulfitlösung und 1,0 ml Chromotropsäurereagens (siehe unten) und erhitzt 30 min im kochenden Wasserbad. Nach der Abkühlung erfolgt die Messung bei 560 mμ gegen den Leerwert. Durch zusätzliche Messung bei 500 und 620 mμ überzeugt man sich, daß tatsächlich das Absorptionsmaximum bei 560 mμ liegt, also Formaldehyd vorliegt. Der Meßwert kann nach W. M. Allen[1] korrigiert werden. — Chromotropsäurereagens: Für eine Vorratslösung löst man 500,0 mg aus Alkohol umkristallisierte Chromotropsäure in 4,0 ml Wasser und bewahrt bei 4°C auf. Kurz vor Gebrauch entnimmt man daraus 0,4 ml und füllt mit konz. Schwefelsäure (p. a.) auf 10,0 ml auf. H. Pelzer

Über die Trennung von Steroiden durch Verteilungschromatographie an Cellulosesäulen berichten W. Dirscherl, W. Korus und H. Schriefers[2]. Die Verff. wandten die Erfahrungen der Papierchromatographie mit an Toluol gesättigtem Propylenglykol (PG) auf die Säulenchromatographie mit Cellulosepulver an. Das Cellulosepulver (Schl. & Sch. Nr. 123) wurde durch 48stündige kontinuierliche Extraktion mit 250 ml Toluol + 150 ml Methanol je 20 g Pulver im Soxhlet gereinigt und auf einer Glasplatte bei 30°C 24—48 Std getrocknet. Zur Imprägnierung unter standardisierten Bedingungen wurde in einem temperaturkonstanten Raum bei 20°C mit einer Mischung von 1,4 ml PG und 4,6 ml Methanol je Gramm Cellulose 5 min geschüttelt. Den erhaltenen Brei strich man in möglichst dünner und gleichmäßiger Schicht auf einer Glasplatte aus und beließ zum Abdunsten des Methanols 4 Std bei 20°C, wobei in $^1/_2$stündigen Abständen die Celluloseschicht aufgenommen und erneut gleichmäßig verteilt wurde. Zur Herstellung der Säule (11 × 180 mm) wurde im Prinzip nach der Vorschrift von Butt u. Mitarb.[3] verfahren. Bei der Chromatographie von *11-Desoxycorticosteron* (I), *Testosteron* (II), *Cortisonacetat* (III) und *Cortison* (IV) konnten durch Elution mit Propylenglykol/Toluol gute Trennungen erzielt werden. Zwischen den R_f-Werten der Papierchromatographie (Schl. & Sch. 2043b) und den Eluatschwerpunkten an der Säule besteht eine mathematische Beziehung, die in einem Diagramm mit halblogarithmischem Maßstab fast eine Gerade ergibt. Damit läßt sich unter Standardbedingungen der R_f-Wert unbekannter Verbindungen aus ihrem Eluatschwerpunkt berechnen. Die beschriebene Cellulosesäule arbeitet quantitativ (95—100% Ausbeuten), wie an den Steroiden I—IV gezeigt werden konnte. Ein Versuch unter Zusatz eines Äther-Chloroform-Extraktes aus Rattenleberhomogenat zu größeren Mengen reiner Steroide erbrachte keine Verschiebung der Eluatschwerpunkte. Die Abhängigkeit der Eluatschwerpunkte von Säulenlänge und Beladung mit Imprägnierungsmittel wird demonstriert. Die beschriebene Säule hat die günstigsten Werte der beiden Variablen. H. Pelzer

Eine Tüpfelprobe für 3-Hydroxyd-Δ^5-steroide beschreiben R. F. Witter und S. Stone[4]. Die Empfindlichkeit reicht bis 5 μg Steroid je 10 μl (1,8 cm^2 Papierfläche). Das trockene Papier (z. B. Whatman Nr. 1) wird mit wassergesättigtem Phenol besprüht und 1 Std bei Raumtemperatur getrocknet. Dann erhitzt man 10 min bei 75°C, besprüht nun mit einem modifizierten Hanes-Isherwood-Reagens (1 g Ammoniummolybdat und 2,5 ml 60%iger Perchlorsäure gelöst in 100 ml 0,1 n

[1] J. clin. Endocrinol. **10**, 71 (1950).

[2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **305**, 116—122 (1956). Univ. Bonn a. Rh.

[3] Butt, W. R., P. Morris, C. J. O. R. Morris und D. C. Williams: Biochemic. J. **49**, 434 (1951); vgl. diese Z. **137**, 126 (1952/53).

[4] Analyt. Chemistry **29**, 156—157 (1957). Univ. Rochester, Rochester, N. Y.

wäßriger Salzsäure)[1] und erhitzt sofort das Papier 8 min in einem Trockenschrank bei 75—80° C. 3-Hydroxy-Δ^5-steroide geben unter diesen Bedingungen rotviolette Flecken, die dann bei Raumtemperatur innerhalb 1 Std in Blau übergehen. Die angegebene Farbe ist spezifisch für die oben genannte Gruppe von Steroiden. Von einer großen Anzahl anderer getesteter Steroide gaben keine weiteren diese Reaktion. Sie ist ebenfalls negativ bei 7-Keto-3-Hydroxy-Δ^5-steroiden. H. Pelzer

Über den Nachweis von androgenen Hormonen in einem virilisierenden Ovarialtumor berichten R. Anliker, O. Rohr und L. Ruzicka[2]. Nach einem genau beschriebenen Aufteilungsverfahren, das auch in einem Schema wiedergegeben ist, werden in 65 g eines 110 g schweren Arrhenoblastoms einer 24jährigen Patientin 4—10 μg Testosteron, 24 μg Δ^4-Androsten-3,17-dion und 4 μg Androsteron nachgewiesen. Außerdem finden sich noch 2 μg Progesteron. Der Nachweis erfolgt papierchromatographisch durch mindestens 2 stark differenzierende Systeme im Vergleich mit authentischen Präparaten und durch Farbreaktionen. Die halbquantitative Abschätzung geschieht auf Grund sorgfältiger UV-Photokopien, wobei der Fehler $\pm$ 40% beträgt. Das Testosteron wird außerdem noch durch Chromoxydation in Δ^4-Androsten-3,17-dion umgewandelt. Die hohen Werte der 3 gefundenen androgenen Hormone und das Verschwinden der Virilisierung nach der Operation sprechen dafür, daß die Umstellung durch die tumoreigenen Androgene bewirkt worden ist. E. Müller, Würzburg

Um zu einer vereinfachten Tetrazoliumblau-Reaktion (3,3[1]-Dianisol-bis-4,4[1]-[3,5-diphenyl]-tetrazoliumchlorid) zur Bestimmung von α-Ketosteroiden zu gelangen, verwendeten R. O. Recknagel und M. Litteria[3] erneut NaOH als Alkalisierungsreagens. Nach Angaben der Verff. ist ihre Methode den bisher bekannten Verfahren mit NaOH oder Tetramethylammoniumhydroxyd überlegen. Dagegen war das Cholinverfahren von Chen u. Mitarb.[4] nicht erprobt und verglichen worden. Verff. lösen die eingedampften Steroid- oder Extraktprobe in 2,0 ml Tetrazoliumblaureagenslösung (0,25 mg Farbstoff ml doppelt dest. Äthanol) und setzen dann 1,0 ml 0,03 n Natronlauge zu (6,0 n wäßrige Natronlauge mit Äthanol auf 0,03 n verdünnt; frisch bereitet). Die Lösungen bleiben nun bei Raumtemperatur eine für die einzelnen Verbindungen variierende Zeit stehen und werden dann bei 525 mμ colorimetriert. Die geeigneten Zeiten sind für *Cortison* 30 min, für *Desoxycorticosteron* 30 min, für *Corticosteron* 50 min und für *Hydrocortison* 50 min. H. Pelzer

Die Farbreaktion zwischen 17-Ketosteroiden und 3,5-Dinitrobenzoesäure (I) hat nach S. Cohen und A. Kaluszyner[5] Vorteile gegenüber der üblichen Nachweisreaktion mit m-Dinitrobenzol (II). Bei der Bestimmung der 17-Ketosteroide (17-KS) in *Harnextrakten* geben die nichtketonischen Anteile weitaus geringere Farbreaktionen mit I als mit II. Deshalb kann bei dem Verfahren mit I eine vorherige Reinigung mit Girard-Reagens T unterbleiben. Nachteile der neuen 17-KS-Bestimmungsmethode sind der nur etwa halb so hohe Extinktionskoeffizient des gebildeten Farbstoffes und die Tatsache, daß die Farbreaktion nicht uneingeschränkt dem Beerschen Gesetz gehorcht. Bei Verwendung von Reinsubstanz (*Dehydroisoandrosteron* [DHA]) verläuft die Eichkurve nur zwischen 40 und 300 μg DHA, bei Verwendung von Harnextrakten nur im Transmissionsbereich von 40—60%, linear. — *Arbeitsweise.* Ein Teil des nach Robbie und Gibson[6] aufgearbeiteten

[1] Hanes, C. S., und F. A. Isherwood: Nature **164**, 1107 (1949).
[2] Liebigs Ann. Chem. **603**, 109—114 (1957). Eidgen. T. H. Zürich (Schweiz).
[3] J. Lab. clin. Med. **48**, 463—468 (1956). West. Reserve Univ., Cleveland, Ohio.
[4] Chen, C., J. Wheeler und H. E. Tewell: J. Lab. clin. Med. **42**, 749 (1953).
[5] Analyt. Chemistry **29**, 161—164 (1957). Med. Res. Lab., Defence Forces (Israel).
[6] Robbie, W. A., und R. B. Gibson: J. clin. Endocrinol. **3**, 200 (1943).

Harnextraktes wird so stark mit Methanol verdünnt, daß 1 ml der Lösung 25 ml Originalharn entspricht. Man entnimmt 0,2 ml, versetzt mit 0,2 ml einer 4%igen Lösung von I in abs. Methanol und 0,5 ml 0,2%iger Kalilauge in Wasser und erwärmt 60 min auf 25° C. Dann wird mit Methanol-Wasser (3 : 1) verdünnt und innerhalb von 3—5 min die Extinktion bei 550 mμ gegen einen Leerwert gemessen.
H. Pelzer

Über die Bewertung des Silber-Porter-Verfahrens[1] zur Bestimmung von Plasma-Hydrocortison berichten R.E. Peterson, A.Karrer und S.L. Guerra[2] in einer sehr ausfürlichen Arbeit. Verff. fanden, daß man die relativ komplizierte Methode von D. H. Nelson und K. T. Samuels[3] durch eine direkte Bestimmung ohne vorherige Reinigung an Silicagel ersetzen kann. — *Arbeitsweise.* 5 ml heparinisiertes Plasma werden zusammen mit 25 ml Dichlormethan (DCM) in einem 200 ml-Erlenmeyer-Kolben 5—10 min vorsichtig geschüttelt und dann in einen 25 ml-Meßzylinder übergeführt (durch vorsichtiges Arbeiten Emulsion verhindern!). Nachdem man durch Absaugen das Plasma möglichst quantitativ entfernt hat, setzt man 2 ml 0,1 n Natronlauge zu, schüttelt kräftig 15—20 sec und saugt die wäßrige Phase ebenfalls ab. Nun werden 2 aliquote Teile (10 ml) des verbliebenen DCM in je 1 Schliffreagensglas übergeführt. Der einen Probe setzt man 0,2 ml des Phenylhydrazinreagenses (50 mg Phenylhydrazinhydrochlorid gelöst in 50 ml eines Gemisches von 2 Teilen 64%iger Schwefelsäure und 1 Teil Äthanol), der anderen dasselbe ohne Phenylhydrazinhydrochlorid zu (Reagentienleerwert). Nachdem man das Gemisch 15—20 sec kräftig geschüttelt hat, läßt man 30 min stehen, saugt die obere DCM-Schicht ab und bewahrt die Schwefelsäure-Äthanollösung bei Raumtemperatur 8—24 Std auf. Die Colorimetrie erfolgt in Mikroküvetten in einem Spektralphotometer bei 410 mμ. (Verff. verwendeten 1,5 × 10 × 15 mm-Küvetten der Pyrocell Manufacturing Co., New York, und ein Beckman DU-Gerät.) Als Standard behandelt man in gleicher Weise eine Lösung von 5 μg Hydrocortison (HC) in 5 ml Wasser. Der molare Extinktionskoeffizient von HC beträgt bei dieser Methode 23500. Außer HC werden mit dem beschriebenen Verfahren auch *Cortison*, *Tetrahydrocortison*, *Tetrahydrohydrocortison*, *Dihydrocortison*, *Dihydrohydrocortison* und Compound S erfaßt. Es ist jedoch in einer Reihe von Beispielen mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode gezeigt worden, daß diese störenden Steroide beim gesunden Menschen, sowie bei Patienten mit Myxödem, Thyrotoxicose, akutem Fieber, Leberschaden mit Ikterus, rheumatischer Arthritis und verschiedenen Anämien nur in verschwindend kleinen Mengen im Plasma vorkommen. Die Normalwerte für HC bei Frauen und Männern sind an 50 Beispielen zu 6—25 μg-% bzw. 15 ± 4,5 μg-% (Standardabweichung) bestimmt worden. — Das beschriebene Verfahren stellt in der Wahl der Lösungsmittel, der Reaktionsdauer und der Temperatur maximale Bedingungen dar. Bezüglich der unbedingt erforderlichen weitgehenden Reinigung der Lösungsmittel, des Phenylhydrazinhydrochlorids und der Glasgeräte muß auf das Original verwiesen werden. H. Pelzer

Über die Bestimmung von 17-Oxycorticosteroiden im Urin und die Bedeutung für die Diagnose der Nebennierenrindenfunktion berichten H. Breuer und W. Nocke[4]. Sie verwendeten die Methode von G. Gibson und J. K. Norymberski[5] zur Bestimmung der 17-ketogenen Steroide im Harn von Patienten mit endocrinologischen Erkrankungen. Es werden die Ausscheidungsmengen bei Cushing-Syndrom, kon-

[1] Vgl. dazu Glenn, E. M., und D. H. Nelson: vgl. diese Z. **145**, 378 (1955).
[2] Analyt. Chemistry **29**, 144—149 (1957). Nat. Inst. Health, Bethesda, Md. (USA).
[3] J. clin. Endocrinol. Metabolism **12**, 519 (1952).
[4] Klin. Wschr. **1957**, 187—191. Univ.- und Polyklinik Bonn.
[5] Ann. Rheumat. Dis. **13**, 59 (1954).

genitalem androgenem androgenitalem Syndrom und postpubertalem Virilismus mit Normalwerten verglichen und die sich daraus ergebenden diagnostischen Möglichkeiten diskutiert. H. PELZER

Die Bestimmung der neutralen und phenolischen Harn-Steroide mit Pyridin und m-Dinitrobenzol hat nach W. WENDLAND und K. LOHMANN[1] mehrere Vorteile gegenüber den bisher bekanntgewordenen Modifikationen der Zimmermannschen Reaktion[2]. Zwar muß auch bei Verwendung von Pyridin auf besondere Reinheit aller Reagentien geachtet werden, aber die Empfindlichkeit der Farbentwicklung gegenüber Reaktionsdauer, Temperaturschwankungen und Stärke der zugesetzten wäßrigen Natronlauge ist bedeutend herabgesetzt. Die beschriebene Bestimmung ist nicht spezifisch für 17-Ketosteroide, sondern erfaßt alle anwesenden Verbindungen mit einer oder mehreren aktivierten Methylengruppen. Äquimolare Mengen von Aceton, Androsteron, Dehydroandrosteron, Testosteron, Oestron und Desoxycorticosteronacetat geben gleiche Extinktionen, Progesteron und Androstandion mit jeweils zwei aktiven Methylengruppen geben nicht die zweifache, sondern nur etwa $1^1/_2$fache Extinktion. Sehr intensiv reagiert auch Kreatinin, was man bei Harnuntersuchungen zu beachten hat. — *Reinigung der Reagentien.* In 1 l „Pyridin rein" (Merck) wird 1 g fein pulverisiertes Semicarbazidhydrochlorid gelöst und die Lösung über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das dann im Vakuum abdestillierte Pyridin ist genügend rein für die Reaktion. Nach Ausführung der Bestimmung kann das Pyridin durch aufeinanderfolgende Destillation über KOH und Semicarbacidhydrochlorid regeneriert werden. — m-Dinitrobenzol „reinst" (Merck) (100 g) wird in 200 ml Pyridin gelöst und 5—10 min mit 30 ml 5n NaOH-Lösung geschüttelt. Die Natronlauge wird abgetrennt, das m-Dinitrobenzol mit 150 ml Wasser ausgefällt, abgesaugt, gründlich mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsiccator gut getrocknet. — *Ausführung der Bestimmung.* Der auf übliche Weise hydrolysierte Harn wird mit reinstem Toluol (nicht mit Äther!) extrahiert und die organische Phase zur Entfernung der sauren und phenolischen Verbindungen mit 1n Natronlauge gewaschen. Den nach der Entfernung des Toluols erhaltenen Eindampfrückstand löst man in Pyridin (10 ml für 5 ml Harn), überführt davon 2mal 5,0 ml in Schliffreagensgläser, setzt einer der beiden Proben (1) etwa 10 mg m-Dinitrobenzol zu, pipettiert in beide Gläser 0,2 ml 0,1n NaOH-Lösung und läßt nach kräftigem Schütteln 1 Std bei 37° C im Dunkeln stehen. Nach dieser Zeit wird zu beiden Proben ein Kriställchen Borsäure gegeben und leicht umgeschwenkt, wobei die unspezifische rote Farbe verschwindet. Dann wird Probe 1 gegen Probe 2 im Spektrophotometer bei 585 mμ photometriert. Die Extinktion beträgt 0,235 für 0,02 μMol Androsteron/ml Lösung, gemessen in Küvetten mit 5 mm Schichtdicke. H. PELZER

Schnellbestimmung der Serumlipoide. Im Anschluß an eine frühere Mitteilung[3] berichtet W. WEIGEL[4] über eine neue Methode der *Fettsäurebestimmung durch eine Formaldehydreaktion*, nach der es möglich sein soll, die gesättigten und die ungesättigten Fettsäuren in einem Arbeitsgang zu bestimmen. Das Prinzip der Methode besteht darin, daß sich bei Gegenwart von konz. Schwefelsäure aus Fettsäure und Formaldehyd ein gelb bis rotbraun gefärbtes Polymerisationsprodukt unbekannter Zusammensetzung bildet, dessen Farbstärke proportional der vorhandenen Fettsäuremenge ist; das Lambert-Beersche Gesetz wird erfüllt. Neben der Zeitdauer der Reaktion muß vor allem die richtige Temperatur beachtet werden. Während Zeit-

[1] Biochem. Z. **328**, 420—428 (1957). Dtsch. Akad. Wiss., Abt. Biochem., Berlin.
[2] ZIMMERMANN, W.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **233**, 257 (1935).
[3] WEIGEL, W.: Fette u. Seifen **57**, 486 (1955); vgl. diese Z. **151**, 227 (1956).
[4] Fette u. Seifen **58**, 1038—1041 (1956). Charité, Berlin.

unterschiede von 1—2 min keine sehr große Rolle spielen, ist der durch Unterschiede von 0,5—1,0° C hervorgerufene Fehler von Bedeutung. Größte Reinheit der Reagentien einschließlich des Wassers, sowie die genaue Einhaltung der Konzentration der Schwefelsäure sind erforderlich. Die bei der Reaktion entstehende Farbe verhält sich in ihrer Stärke proportional der Kettenlänge (ab Capronsäure ist die Reaktion positiv, Fettsäuren mit mehr als 18 C-Atomen sind nicht untersucht worden). Unterschiede zwischen C_{16}- und C_{18}-Fettsäuren sind sehr gering. Daher werden bei der Berechnung nur Durchschnittswerte (Stearinsäure) angegeben. Die ungesättigten Fettsäuren reagieren mit zunehmender Zahl an Doppelbindungen stärker. Bei 98—100° C und 60 min werden aber bei gleichen Mengen gesättigter und ungesättigter Fettsäuren die gleichen Extinktionen erhalten, so daß auch ohne weiteres der Gesamtfettsäure-Gehalt einer Substanz festgestellt werden kann. — Zur Bestimmung der ungesättigten Fettsäuren werden die gesättigten Fettsäuren dadurch ausgeschaltet, daß die Formaldehydreaktion in Gegenwart von 1 ml H_2O durchgeführt wird. Dann reagieren nur noch die ungesättigten Anteile. Werden die ungesättigten Fettsäuren in 3 ml konz. Schwefelsäure unter Zugabe von 1 ml Essigsäureanhydrid oder acetaldehydhaltigem (100—200 mg-%) Eisessig gelöst, so können nach etwa 20 min (bei Zimmertemp.) die stärker ungesättigten Fettsäuren, wie z. B. Linolensäure, durch Farbmessung bestimmt werden. Erhitzt man die gleiche Probe 1 Std lang auf 100° C, so werden bei der Extinktionsmessung die gesamten ungesättigten Fettsäuren erfaßt. Bei der ersten Reaktion bewirkt die Ölsäure, bei der letzten Reaktion verursachen die gesättigten Fettsäuren kleine Extinktionserhöhungen, die zu berücksichtigen sind. — An Beispielen sind die Ergebnisse wiedergegeben. Von einem Testgemisch, das 55 mg-% Stearinsäure, 27 mg-% Ölsäure und 18 mg-% Linolensäure enthielt, wurden folgende Mengen wiedergefunden: 52 mg-% Stearinsäure, 29 mg-% Ölsäure und 18 mg-% Linolensäure. — *Ausführung. Bestimmung der Gesamtfettsäuren.* Das zu untersuchende Serum wird wie üblich nach Bloor extrahiert und aufgearbeitet. Cholesterin und Farbstoffe müssen dabei entfernt werden. Wenn die Gesamtfettsäuren in Äther oder Petroläther vorliegen, müssen diese Lösungsmittel im Vakuum bei 50° C entfernt werden. Nach Zugabe von Chloroform destilliert man mit diesem das meiste Wasser ab. Nach Auffüllen mit Chloroform kommt ein aliquoter Teil in ein Reagensglas, dem 3 Tropfen 2n KOH-Lösung zugesetzt werden. Jetzt wird innerhalb von 10 min im Vakuum zur Trockne eingedampft, mit 3 ml konz. Schwefelsäure und 0,5 m 10%iger wäßriger Formaldehydlösung gut gemischt und im Wasserbad 60 min auf 98—100° C verschlossen erhitzt. Nach Abkühlen in kaltem Wasser und Zugabe von 3 ml konz. Schwefelsäure erfolgt die Messung im Pulfrich-Photometer mit Filter S 43 in einer 0,5 cm-Küvette (Farbe bleibt mehrere Stunden unverändert haltbar, Ergebnis des Blindversuchs ist abzuziehen!). Für hohe Extinktionen wird eine Verdünnung von 1 : 6 empfohlen. Die Auswertung geschieht aus Eichkurven. — *Die Bestimmung der ungesättigten Fettsäuren* mit Hilfe der Formaldehydreaktion geschieht wie vor, nur versetzt man außer mit 3 ml konz. Schwefelsäure und 0,5 ml Formaldehydlösung auch mit 1 ml Wasser und erhitzt auf 88—89° C. An Stelle von Formaldehyd kann hier auch eine 4%ige Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 50%iger Schwefelsäure verwandt und nur 20 min erhitzt werden. H. Kathen

Über Hämoglobin- und Eiweißbestimmung bei Blutspendern mit der bekannten Kupfersulfatmethode von Phillips und van Slyke berichten J. J. Brosdetzko und G. Ohlenschläger[1]. Bei 900 Untersuchungen hat sich die einfache und schnelle Methode bewährt. Die Ergebnisse werden mit anderen exakteren Methoden verglichen und erweisen sich für die gestellten Anforderungen als ausreichend.

E. Müller, Würzburg

[1] Röntgen- u. Laborat.-Praxis **9**, 319—322 (1956). Serum-Inst. Frankfurt/Main.

Über spektrophotometrische Bestimmung von Methämoglobin berichten C. J. Muller und W. G. Zijlstra[1]. Die früher angegebene Methode[2,3] wird dadurch verbessert, daß 0,1% NH_3 durch 0,9 m Äqu./l NH_3 ersetzt wird, wodurch der p_H-Wert von 11,0 auf 10,1 sinkt. Dadurch wird die Bildung von störendem alkalischem Hämatin unterbunden und die Genauigkeit der Methode, die früher bei hohen Methämoglobinkonzentrationen nur $\pm$ 3,5% betrug, auf $\pm$ 1,4% zu erhöhen. Außerdem haben Verff. eine neue Methode für nur 0,013 cm Schichtdicke ausgearbeitet, bei der die Extinktionsmessung des Zweikomponentengemisches Methämoglobin (Hi) und Oxyhämoglobin (HbO_2) bei 558 und 523 mμ vorgenommen wird. Man erreicht damit eine Genauigkeit von $\pm$ 0,5%. — *Ausführung.* Das Blut wird nach[3] mit Sauerstoff gesättigt. Etwa 0,5 ml Blut wird in einer 1 ml-Spritze, die eine Glasperle enthält, mit etwa 0,5 ml Wasser und 1 Tropfen 30%iger Saponinlösung gemischt und bis zur vollständigen Hämolyse geschüttelt. Mit langer Nadel füllt man eine 0,100 cm-Küvette, setzt ein Glasplättchen von 0,087 cm Dicke ein[3] und mißt die Extinktion bei 558 und 523 mμ. Die Berechnung der partiellen Methämoglobinkonzentration S_M erfolgt nach der Formel $S_M = a\,(D^{558}/D^{523}) - b$. Die Werte von a und b werden zu $a = -1{,}610$ und $b = -1{,}971$ bestimmt. Die mit der verbesserten und mit der neuen Methode gefundenen Werte stimmen gut überein.

E. Müller, Würzburg

Zur papierchromatographischen Trennung der Koproporphyrine I und III verwendet man nach V. Holeček[4] zweckmäßig nicht die Methylester sondern die nichtesterifizierten Verbindungen. Die beste Trennung der beiden Isomeren erzielt man auf Whatman-Papier Nr. 1 in verdunkelter Glaswanne mit dem Lösungsmittelgemisch Lutidin-Wasser [58 : 42 (Vol.)] unter Zusatz von 0,025% Trichloressigsäure bei aufsteigender Arbeitsweise und einer Laufstrecke von 25—30 cm. Das Verfahren eignet sich zum Nachweis kleiner Mengen KoproporphyrinI neben Überschüssen an KoproporphyrinIII. Zum Nachweis kleiner Mengen KoproporphyrinIII neben Überschuß an KoproporphyrinI bewährt sich die Entwicklung in NH_3-Atmosphäre. In Gegenwart von Ballaststoffen aus dem Harn ändern sich die R_f-Werte zum Teil, so daß die Identifizierung der einzelnen Flecken zweckmäßig auf Parallelchromatogrammen unter Zusatz von Standardporphyrinen erfolgt. Die Originalarbeit enthält weitere Einzelheiten und genaue Arbeitsvorschriften.

A. Kurtenacker

Eine schnelle, spektrophotometrische Methode zur Bestimmung gereinigter Cholinesterase gibt I. I. A. Tabachnick[5] an. Die Methode beruht auf der Beobachtung, daß Thiocholinester von Cholinesterase hydrolysiert werden und diese Ester bei 226 mμ und 250 mμ Absorptionsmaxima zeigen. — *Ausführung.* In der 1 cm-Photometerküvette mischt man 1 ml 0,1 m Natriumphosphatpufferlösung p_H 6,4 und 1 ml Enzymlösung in demselben Puffer. Diese Mischung dient als Blindwert, dessen Extinktion bei 250 mμ als Nullwert eingestellt wird. Als Substrat verwendet man 1 ml einer $6{,}7 \cdot 10^{-4}$ m Lösung der Jodide von Acetylthiocholin oder Butyrylthiocholin in obigem Puffer. Nach Substratzusatz mischt man und mißt die Extinktion alle 15 oder 30 sec bis die Hydrolyse beendet ist. Die Bestimmungen werden bei 30—31° C (Thermostat) ausgeführt.

E. Müller, Würzburg

---

[1] Klin. Wschr. **1957**, 356—358. Reichsuniv. Groningen (Niederlande).

[2] Handelé, M. J., und W. G. Zijlstra: Proc. Kon. Akad. Wetensch., Ser. C **58**, 652 (1955).

[3] Zijlstra, W. G.: Klin. Wschr. **1956**, 384.

[4] Chem. Listy **51**, 315—318 (1957) [Tschechisch]. Collect. czechoslov. chem. Commun. **22**, 1036 (1957). Inst. f. Arbeitshygiene und Berufskrankh. Prag (ČSR).

[5] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **21**, 580—581 (1956). Schering Corp. Bloomfield, N. J. (USA).